Über den Einfluß der Bestrahlung auf *Bacterium pyocyaneum* (Gessard, Flügge) und seine Pigmente

Von

Prof. Dr. Johannes Furlani
(Staatsgymnasium in Wien VII.)

Aus dem Institut für Pathologische Histologie und Bakteriologie der Universität Wien. Vorstand Prof. Dr. Oskar Stoerk.

(Vorgelegt in der Sitzung am 6. Februar 1919)

1. Die Pigmente der Bakterien fluoreszens liquefaziens und Pyocyaneus und ihre Bildung.

Es liegen eine Reihe von Arbeiten über die Pigmente der *Pyocyaneus-fluoreszens*-Gruppe vor, so von Babès, Boland, Charrin, D'Arsonval, Ernst, Fordos, Gessard, Jakowski, Krause, Ledderhose, Mühsam und Schimmelbusch, Noesske, Thumm, Wasserzug, Kurt Wolf. Auf Grund meiner eigenen Beobachtungen muß ich mich jenen Autoren anschließen, die zwei Gruppen von Farbstoffen unterscheiden; den Ausführungen Thumm's und denjenigen K. Wolf's kann ich, wie sich im Laufe des Folgenden zeigen wird, in manchen Punkten nicht beipflichten. *B. fluoreszens-liquefaziens* bildet einen wasser- und alkohollöslichen, chloroformunlöslichen, im durchfallenden Lichte gelben Farbstoff mit größerer Fluoreszenz. Durch Zusatz von Säuren wie auch durch längeres Stehen an der Luft oxydiert dieser Farbstoff, wobei er eine olivbraune Farbe annimmt. Beschleunigt wird dieser Oxydationsvorgang an der Luft bei höherem Luftdruck oder beim Durchgang durch ein Berkefeld-Porzellan-

filter. Stets verliert dabei der Farbstoff die Fluoreszenz. Umgekehrt wird durch Zusatz von Alkali zum Lösungsmittel die Fluoreszenz erhöht, wodurch die Lösung leuchtend grün erscheint; im durchfallenden Lichte bleibt die Farbe jedoch unverändert gelb. Das Spektrum des *B. fluoreszens*, beobachtet im Mikrospektroskop Zeiß, bei einer Schichtdicke von 10 *mm*, zeigte außer einer totalen Endabsorption am roten Ende bis 690 und darauffolgender rascher Abnahme der Absorption eine stärkere Zunahme derselben zwischen 610 und 580, die hier jäh aufhört. Die totale Endabsorption am violetten Ende reicht bis 430, von da an nimmt sie bis 520 ab, um hier zu verschwinden.

Außer diesem Farbstoff enthält der *Pyocyaneus* noch einen chloroformlöslichen Farbstoff, der aus jüngeren Kulturen in blaugrüner Farbe in Lösung geht: das Pyocyanin der Autoren. Dieses Pyocyanin macht durch sein Vorkommen die wesentliche Unterscheidung des *B. pyocyaneum* vom *B. fluoreszensliquefaciens* aus. Dieser Farbstoff, aus wässeriger Lösung leicht in rhombischen Krystallen erhältlich, zuerst von Fordos 1860 isoliert und benannt, hat nach Ledderhose die Formel $C_{14}H_{14}N_2O$ und ist eine dem Anthracen verwandte aromatische Verbindung. Das Pyocyanin geht aus einer Leukobase durch Oxydation dieser in alkalischer Lösung hervor. Die Reduktion gelingt durch Schwefelwasserstoff, aber auch durch Natriumamalgam. Umgekehrt oxydiert sich die Base rasch durch Einleiten von Sauerstoff zum blauen Farbstoffe. Wird der wässerigen Lösung Salzsäure zugesetzt, so geht die blaue Farbe in rot über.

Die totale Endabsorption sah ich am roten Ende des Spektrums bis 660, dann nimmt sie bis 600 ab, wo sie sich wieder bis 590 verstärkt. Am violetten Ende erscheint die Strahlung bis 430 stärker geschwächt; sie nimmt von hier rasch ab, um bei 490 ganz zu verschwinden.

Das Pyocyanin pflegt man aus einer Bouillonkultur derart zu gewinnen, daß man in dieselbe Chloroform eingießt und das Röhrchen sofort energisch schüttelt. Gießt man das Chloroform jedoch langsam ein und vermeidet ein zu heftiges Schütteln, so tritt nicht der blaugrüne Farbstoff ins Chloroform

ein, sondern das Chloroform nimmt zuerst eine zarte, himbeerrote Farbe an, dann tritt in der Grenzschicht gegen die Bouillon hin die bekannte Pyocyaninfärbung ein, die sich allmählich nach unten hin ins Chloroform ausbreitet, wodurch die Rosafärbung verdeckt wird. Gießt man, bevor letztere Mengung eintritt, den oben befindlichen Flüssigkeitsanteil mit dem in der Bouillon enthaltenen gelbgrünen Fluoreszin und dem in der Grenzzone befindlichen blauen Pigment ab, so hat man die rascher lösliche Komponente des chloroformlöslichen Pigmentanteiles von der schwerer löslichen blauen getrennt. Diese beiden zusammen geben das Pyocyanin der Autoren, das ich Rohpyocyanin nennen will.

Aus dem Rohpyocyanin konnte ich durch Ausschütteln mit konzentrierter Salzsäure wieder seine beiden Komponenten trennen: 1. In die Salzsäure tritt ein rubinroter Farbstoff über, der, mit Lauge alkalisiert, ultramarinblau wird, das reine Pyocyanin. Von Chloroform wird es in gleicher Farbe wieder aufgenommen und zeigt dann auch nach längerer Zeit (4 bis 6 Wochen) keine Farbenänderung — im Gegensatz zur Rohlösung, die allmählich eine gelbgrüne Farbe annimmt. 2. Nach dem Ausschütteln der Rohlösung mit Salzsäure ist im Chloroform das himbeerfarbene Pigment verblieben, das von Lauge in rotbrauner Farbe übernommen wird. Dieses Pigment, das Pyoerythrin, ist wohl identisch mit dem von Beyerink, in Pyocyaninkulturen aus Gartenerde gezogen, beobachteten Farbstoff. In Schwefelsäure geht es in grüne Farbe über. Auch Eisessig färbt es grün; Ammoniak restituiert wieder die Himbeerfarbe. In manchen Pyocyaninstämmen sind kaum Spuren dieses Pigments vorhanden. Darum, und weil es im Lichte seine Farbe äußerst rasch in nußbraun ändert, um schließlich unter Bildung eines dunklen Niederschlages zerstört zu werden, wurde es ganz übersehen. Auch ist es in älteren Kulturen bereits zerstört. Beim Cassin'schen Bazillus, mit dem auch Conor gearbeitet hat, wird nur das Erythrin gebildet. Wird die Rohpyocyaninlösung in Chloroform zuerst mit Alkali behandelt, so geht in dieses das Pyoerythrin über, das Chloroform bleibt durch das Reinpyocyanin ultramarinblau gefärbt. Es ändert sich also durch die Änderung der

Reihenfolge der chemischen Zusätze zu der Rohlösung nichts hinsichtlich der Komponenten derselben. Werden die zuletzt angeführten Oxydationsprodukte des Chromogens, Pyocyanin und Pyoerythrin nicht getrennt, so bilden sie die weiteren, von Fordos, Boland u. a. beschriebenen gelben bis braunen Oxydationsprodukte; dies gilt sowohl für Lösungen als auch für Krystalle. Wird eine Rohpyocyaninlösung in Chloroform aus einer erst einen Tag alten Kultur, mit verdünnter Salzsäure (1 : 3 nach Boland) behandelt, so geht das ganze Rohpyocyanin in die Säure über und das Chloroform bleibt farblos; ist die Kultur, aus der extrahiert wurde, bereits einige Tage alt oder läßt man die Rohpyocyaninlösung erst einige Tage stehen, so bleibt nach der Behandlung mit verdünnter Salzsäure im Chloroform ein gelber Rest, bläulich fluoreszierend, später ohne Fluoreszenz; es ist dies die Pyoxanthose der Autoren. Die Bildung dieses Farbstoffes nimmt im Rohpyocyanin mit der Zeit immer mehr zu. Lösungen und Krystalle des Pyocyanins verändern ihre Farbe bekanntlich aus blaugrün in gelbgrün.

Die Pyoxanthose kann mit Schwefelsäure aus dem Chloroform in Orangefarbe ausgeschüttelt werden. Diese Pyoxanthose geht aus dem Rohpyocyanin hervor, indem bei der Zunahme der Xanthose eine Abnahme des Cyanins eintritt. Diese Abnahme geht so weit, daß sich aus Kulturen, die einige Wochen alt sind und ebenso aus Lösungen des Farbstoffes kein Cyanin mehr ausschütteln läßt, wohl aber ist die Xanthose vorhanden. Während dieses Umwandlungsprozesses haben Kulturen und Lösungen eine Verfärbung ins Braune erlitten. Die Rohpyocyaninlösung in Chloroform, die aus gelbgrün in gelb übergegangen ist, entfärbt sich schließlich nach 6 bis 8 Wochen ganz, wobei ein Niederschlag gebildet wird. Behandelt man alte, bereits ganz rotbraun gewordene Kulturen mit Chloroform, so geht bekanntlich nichts vom Farbstoffe mehr in Lösung. Es ist also auch die Xanthose verschwunden. Das Endprodukt dieses Oxydationsprozesses des ursprünglichen Chromogens ist ein braunroter, stabiler Farbstoff, der allmählich entstanden ist, wie Boland beschreibt, in Alkali oder Wasser löslich ist und den ich Pyophaein nennen will.

Oxydation und Reduktion des Rohpyocyanins konnte ich auch durch Elektrolyse beobachten. Ich habe zu diesem Zwecke den Inhalt eines Bouillon- oder Peptonwasserröhrchens mit Pyocyaneus beziehungsweise Fluoreszenskultur, dann bloß die Flüssigkeit nach Abzentrifugieren der Bakterien, schließlich Wasserlösungen von Cyanin, beziehungsweise Fluoreszin in eine V-Röhre gegossen und einen schwachen elektrischen Strom durchgeleitet. Da die Ergebnisse bei den verschiedenen Versuchsanordnungen die gleichen waren, so kann es sich hierbei — wie aus dem Folgenden hervorgeht — nur um Veränderungen der Farbstoffe selbst gehandelt haben. Wurde die Flüssigkeit in der V-Röhre beiderseits mit Paraffinöl überschichtet, so zeigte das Pyocyanin folgende Farbenveränderungen: Sofort nach Schließung des Stromes trat am Sauerstoffpol eine rubinrote Verfärbung ein, die in rotbraun, braun, gelbbraun überging, bis die Flüssigkeit vollkommen entfärbt war; dafür sammelte sich ein Niederschlag in der neutralen Zone an. Die Zeit, die bis zur völligen Entfärbung nötig war, hing von der ursprünglichen Tiefe der Färbung der Lösung, also von der vorhandenen Pyocyaninmenge ab und schwankte zwischen 30 Minuten und 2 Stunden. Wir sehen am Sauerstoffpol die durch den freiwerdenden Sauerstoff gebildeten Oxydationsprodukte des Pyocyanins in rascherer Folge als in Kulturen oder Lösungen entstehen. Umgekehrt tritt am Wasserstoffpol durch den naszierenden Wasserstoff eine Reduktion des Pyocyanins zu seiner Leukobase ein. Wird die Lösung nicht mit Paraffinöl gegen die Atmosphäre abgeschlossen, so tritt einerseits am O-Pol eine viel raschere, andrerseits am H-Pol eine bedeutend verzögerte Entfärbung ein, ein Beweis für die große Sauerstoffempfindlichkeit unseres Farbstoffes.

Das Pyocyanin verhält sich also wie Atmungspigmente, die Sauerstoff leicht aufnehmen, aber auch leicht wieder abgeben.

Die Behandlung einer Fluoreszinlösung in der gleichen Weise ergab:

Am Sauerstoffpol Verfärbung in Braun bei Verschwinden der Fluoreszenz, dann Ausbleichung bis auf die neutrale Zone, die eine bräunliche Farbe behielt; die farblos gewordene Lösung zeigte eine Zeit lang ein Irisieren. Am Wasserstoffpol trat eine starke Steigerung der grünen Fluoreszenz ein, so daß die Flüssigkeit geradezu grünleuchtend erschien.

Es entspricht also auch das Verhalten des *Bacteriofluoreszins* einerseits dem in Salzsäure, andrerseits dem in Ammoniak. Die in Kulturen von *Fluoreszens liquefaziens* beobachtete Zunahme der Fluoreszenz bis zu einem Maximum ist also auf eine Zunahme der basischen Reaktion im Kulturmedium durch Produktion von Ammoniak zurückzuführen.

Wurde eine Lösung, die Fluoreszin und Pyocyanin enthält, also die Bouillon von einer *Pyocyaneus*-Kultur der Elektrolyse unterworfen, so war das Ergebnis folgendes: Am Sauerstoffpol trat eine Braunfärbung — beide Pigmente bilden ja braune Oxydationsprodukte —, dann Aufhellung ein; sodann zeigte die Flüssigkeit nur mehr das Irisieren des Fluoreszins, die neutrale Zone blieb gelb. Am Wasserstoffpol trat ein rasches Verblassen zufolge der Pyocyaninreduktion ein, wobei aber eine Zunahme der Fluoreszenz analog dem Fluoreszin verhalten, die zu erwarten war, ausblieb.

Hinsichtlich der Lebensbedingungen unserer beiden Bakterien wird angegeben, daß im Nährsubstrat Phosphor, Magnesium und Sulfat nötig seien, die Farbstoffbildung trete bei Gegenwart von Ammoniak und Luftsauerstoff ein. Ich habe *Pyocyaneus* und *Fluoreszens* in Agarröhrchen im Dunkeln kultiviert, die einerseits mit Paraffin abgeschlossen wurden, also eine gewisse Menge von Luft enthielten, andrerseits wurden Kulturen mit Paraffinöl überschichtet, das zuvor ausgekocht worden war; diese Kulturen waren also vom Zutritt der Luft, abgesehen von Luftbläschen, die zwischen Öl und Agar haften blieben, abgeschlossen. Bei beiden Arten des Abschlusses wurden Spuren von Fluoreszin gebildet; das Wachstum hörte auf dem Schrägagar nach wenigen Tagen auf. Die Pyocyaninproduktion war in beiden Fällen eine verschiedene. Wurden die Röhrchen mit Paraffinabschluß, die

nur eine ganz geringe Fluoreszenz zeigten, nach 3 bis 4 Monaten geöffnet, so trat sehr bald (nach zirka $^1/_2$ Stunde sichtbar) ein lebhaftes Ergrünen der Oberfläche des Agars ein, das dann in immer tiefere Schichten fortschritt. Wurden die Röhrchen mit Paraffinölabschluß geöffnet, so wurde ein Ergrünen erst mit dem in allen Röhrchen nach Öffnung neuerlich einsetzenden Bakterienwachstum sichtbar, also erst nach 1 bis 2 Tagen. Im ersten Falle war also unter Einfluß der geringen, eingeschlossenen Menge von »Reizsauerstoff« das Chromogen gebildet worden, daß sich sofort nach Zutritt einer genügenden Menge von Luftsauerstoff zu Pyocyanin oxydierte, im zweiten Falle konnte bei Abwesenheit von Sauerstoff die Cyanobase nicht gebildet werden.

Wir haben zwischen der Bildung des Chromogens und des durch Oxydation daraus hervorgehenden Farbstoffes zu unterscheiden. Die Menge der Chromogenproduktion ist bei verschiedenen Stämmen eine verschiedene. Durch Erwärmung der Kultur auf 57 bis 58° wird sie bekanntlich vermindert beziehungsweise verhindert.

Wesentlich beeinflußt wird sie durch den herrschenden Dampfdruck in der Atmosphäre. — Neelsen hat beobachtet, daß die Bildung des blauen Pigments der Erreger der Blaufärbung der Milch durch schwüle Witterung, warmen Regen, S- und SW-Winde begünstigt werde, kühles Wetter dagegen sie hemme und sogar unterdrücke. — *Pyocyaneus*-Agarplattenkulturen zeigten im absolut feuchten Raum eine gelbgrüne Fluoreszenz, während die Kontrollkulturen schön chromgrün waren; die Extrakte aus den ersteren zeigten nur eine geringe Spur von Pyocyanin, auch trat kein rasches Ergrünen bei Entnahme aus der feuchten Kammer ein, das hätte erfolgen müssen, falls das Chromogen vorhanden gewesen wäre. Kulturen von *Fluoreszens* dagegen zeigten keine Unterdrückung der Fluoreszinbildung im feuchten Raum. Als im Juni 1917 nach einer langen Schönwetterperiode die Feuchtigkeit vor einem eintretenden Regenwetter rasch zunahm, gaben plötzlich die *Pyocyaneus*-Stämme, die vorher stets schön chromgrüne Kulturen geliefert hatten, solche, die nahezu kein Pyocyanin, wohl aber Fluoreszin bildeten. Nach neuer-

lichem Eintritt trockenen Wetters ergaben die von den pyocyaninschwachen Kulturen abgeimpften Platten und Schrägagaraussaaten wieder chromgrüne Färbung.

Die Wirkung strahlender und oszillierender Energie auf die Farbstoffabscheidung des *Pyocyaneus* beobachteten Jakowski, D'Arsonval und Charrin. Ersterer fand, daß die Pigmentbildung in Dunkelkulturen rascher als in Lichtkulturen vor sich gehe; letztere konnten eine Abschwächung der Farbstoffausscheidung und Vermehrungsintensität durch starke elektrische Ströme mit großer Schwingungszahl feststellen. Krause konnte zeigen, daß innerhalb eines Solenoids die grasgrüne Farbe der Pyocyaneuskulturen ins gelbliche überging.

Zur Ergänzung und Erweiterung dieser in der Literatur bekanntgewordenen Versuche stellte ich mir die Aufgabe, die Einwirkung der Strahlung im allgemeinen auf die Bildung der beiden Pigmente, des Fluoreszins und des Pyocyanins, zu ermitteln und festzustellen, ob sich ein Unterschied hinsichtlich der Wirkung diffuser und paralleler Strahlung einerseits, andrerseits ein Unterschied in der Wirkung der Strahlung von verschiedener Wellenlänge zeige.

2. Die Wirkung diffuser Strahlung auf die Farbstoffproduktion von Fluoreszens-liquefaziens-Pyocyaneus.

Die Versuche wurden nach 20stündiger Bebrütung im Thermostaten bei 37°C im diffusen Lichte des Laboratoriums vorgenommen. Die Messung der Lichtintensität nach dem v. Wiesner'schen Verfahren erfolgte mit dem Handinsolator. Verglichen wurden die erreichten Schwärzungen des photographischen Papiers mit dem Farbentone 2·53, bei dem ich mein Auge seinerzeit, anläßlich eigener photometrischer Untersuchungen,[1] bei geringeren Lichtintensitäten als am empfindlichsten für Schwärzungsunterschiede befunden hatte.

---

[1] Siehe hierüber meine Abhandlung: »Das Lichtklima im österreichischen Küstenlande«. Denkschr. d. Akad. d. Wiss., mathem.-naturw. Kl., Wien, 1916, 93. Bd.

Der Vergleich der hier sowie auch in den weiteren Versuchen produzierten Farbstoffmengen erfolgte durch kolorimetrische Bestimmungen; anfänglich auf dem von Boland eingeschlagenen Wege, später jedoch auf dem einfacheren und eine genauere Schätzung zulassenden der Elektrolyse der Pigmente. Wie oben auseinandergesetzt wurde, wird das Pyocyanin beim Durchgang eines sehr schwachen Stromes allmählich zur Leukobase reduziert. Die Zeit bis zu diesem Farbloswerden der Lösung ist eine um so größere, je mehr Farbstoff durch den gleichstarken Strom reduziert werden soll. Verwendet man jedesmal gleiche Mengen des Lösungsmittels für das Pigment, so lassen sich die Zeiten, die notwendig sind, damit der Elektrolyt vom Wasserstoffpol bis zur neutralen Zone farblos erscheine, in den einzelnen Versuchen vergleichen und so die relativen Größen der Pigmentbildung leicht und viel genauer angeben als durch den Vergleich der jeweiligen Farbstofflösungen mit einer stets wieder frisch herzustellenden Normalfarbstofflösung. In der gleichen Weise lassen sich die Pyophaein- und Fluoreszinmengen durch Vergleich der zu ihrer Zerstörung am Sauerstoffpol notwendigen Zeiten abschätzen. — Die Impfung der verschieden hierzu verwendeten Nährböden erfolgte durch die Verteilung gleicher Mengen (= 1 Öse) einer stark verdünnten Bakterienaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung.

Es ergibt sich im allgemeinen aus diesen Versuchen: Die Pyocyaninausscheidung erscheint im diffusen Lichte gegen die im Dunkeln vermindert, die Fluoreszinproduktion etwas gefördert, desgleichen ist die Bildung der Oxydationsprodukte des Pyocyanins, vor allem des Pyophaeins, im diffusen Lichte gefördert. Bei Luftabschluß wird im Dunkeln die Fluoreszin- sowie die Pyocyaninproduktion gehemmt. Spuren von Pigment, vor allem Fluoreszin in den Kulturen, sind auf Luftbläschen in der Kulturflüssigkeit zurückzuführen. Im Peptonwasser, wo keine Fluoreszinproduktion statthat, wird unter Einfluß des Lichtes bei Luftabschluß Pyocyanin produziert, während in Bouillon unter denselben Bedingungen nur die Cyanobase auftritt.

Tabelle 1 *A*.

Plattenkulturen im diffusen Lichte.

Versuchsnummer	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Lichtintensität	Resultat
1	Von Stamm 1 *Pyocyaneus* ein Schrägagarröhrchen beimpft, dann mit Paraffin abgeschlossen. Von diesen fluoreszierenden Röhrchen nach 3 Wochen Agarplatten beschickt. Diese zeigten bei:	20 Stunden	0·004	Fluoreszin
			0	Fluoreszin, Spur von Pyocyanin
		44 Stunden	0·004	Fluoreszin, wenig Pyocyanin
			0	Fluoreszin und Pyocyanin deutlich
		8 Tage	0·004	Mehr Pyophaein
		10 Tage	0	Weniger Pyophaein
	Desgleichen Agarplatten mit Bouillonzusatz. Diese zeigten bei:	36 Stunden	0·004	Raschere Pigmentbildung, Zinnobergrün, Fluoreszin, wenig Pyocyanin
			0	Raschere Pigmentbildung, Chromgrün, Fluoreszin und Pyocyanin deutlich
	Desgleichen Bouillonkulturen. Diese zeigten bei:	4 Tage	0·004	Starke Trübung der Flüssigkeit, grüne Zone unter Häutchen, Spur Pyocyanin
		2 Tage	0	Starke Trübung der Flüssigkeit, grüne Zone unter Häutchen, Pyocyanin deutlich
	Desgleichen Bouillon + Leitungswasser zu gleichen Teilen besät. Es zeigte sich:	8 Tage	0·004	Fluoreszin, mehr Pyocyanin
		8 Tage	0	Mehr Fluoreszin, weniger Pyocyanin

Versuchsnummer	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Lichtintensität	Resultat
2	Von Stamm II *Pyocyaneus* schön chromgrün, Agarplatten besät. Es zeigte sich:	20 Stunden	0·007	Schwach fluoreszierend; kein Pyocyanin
			0	Schwach grasgrün; Pyocyanin vorhanden
		2 Tage	0·007	Schwach grasgrün; Fluoreszin reichlich, Pyocyanin wenig
			0	Chromgrün; Fluoreszin und Pyocyanin reichlich vorhanden
		4 Tage	0·007	Chromgrün
			0	Chromgrün
		6 Tage	0·007	Grünbraun; Pyophacin deutlich
			0	Chromgrün; Pyophacin in Spuren
		8 Tage	0·008	Rotbraun
			0	Beginnende Bräunung; Pyophacin deutlich
		16 Tage	0·008	Rotbraun; Pyocyanin nur noch in Spuren
			0	Rotbraun; Pyocyanin noch reichlich vorhanden
	Von Stamm II Bouillonröhrchenkulturen; der Inhalt nach 16 Tagen (Oberfläche grasgrün) in Schalen umgegossen:	1 Tag	0·008	Bildung eines dunklen Niederschlages. Im Röhrchen erst nach 2 Monaten
		1 Tag	0	Desgleichen

Versuchsnummer	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Lichtintensität	Resultat
3	Von Stamm III *Pyocyaneus* grasgrün, Agarplatten besät. Es zeigte sich:	20 Stunden	0·013	Wenig Fluoreszin, kein Pyocyanin
			0	Fluoreszin und Pyocyanin vorhanden
		2 Tage	0·013	Hellgrün; Spur von Pyocyanin
			0	Intensiv grasgrün; etwa 4fache Menge Pyocyanin des Lichtversuches
		4 Tage	0·014	Grasgrün; beide Pigmente deutlich
			0	Chromgrün; Pyocyaninmenge 5fache des Lichtversuches
		6 Tage	0·014	Chromgrün mit Stich ins Braune; Pyophaein deutlich
			0	Chromgrün; Pyophaein weniger als im Lichtversuch
		8 Tage	0·016	Dunkelbraun; Pyophaeinmenge 3fache des Dunkelversuches
			0	Grünbraun. Pyophaein vorhanden
		10 Tage	0·016	Schwarzbraun. Pyophaeinmenge 5fache des Dunkelversuches
			0	Braungrün. Pyophaein reichlich
		12 Tage	0·017	Schwarzbraun. Geringe Spuren von Pyocyanin
			0	Braun. Pyocyanin noch reichlich vorhanden

Tabelle 1 *B*.

Röhrchenkulturen im diffusen Lichte.

Versuchs-nummer	Versuchs-anordnung	Versuchs-dauer	Licht-intensität	Resultat
4	Von Stamm II Bouillonröhrchen beimpft. Diese zeigten:	7 Tage	0·004	*a*: Zone unter dem Häutchen ergrünt; sonst gleichmäßig gelb mit grüner Fluoreszenz, Spur von Pyocyanin
				b: Gleichmäßig gelb mit grüner Fluoreszenz; kein Pyocyanin, wohl aber nach Sauerstoffdurchgang
				c: Gleichmäßig grünbraun, keine Pyocyaninproduktion nach Sauerstoffdurchtritt
				d: Oberes Drittel ergrünt. Pyocyanin 2 mal soviel als in *a*. Fluoreszin dagegen weniger
				e: Minimales Wachstum. Spur von Fluoreszenz
				f: Etwas gewachsen; keine Pigmentierung
	Desgleichen Peptonwasserröhrchen beimpft. Diese zeigten:	14 Tage	0·004	*a*: Wenig Pyocyanin
				b: Mehr Pyocyanin als in *a*. (1·5 : 1)
				c: Pyoxanthose und Pyophaein vorhanden
				d: Pyocyanin wie in *b*
				e: Geringes Wachstum, keine Pigmentierung
				f: Desgleichen

Versuchs-nummer	Versuchs-anordnung	Versuchs-dauer	Licht-inten-sität	Resultat
5	Von Stamm II beimpfte Bouillon-röhrchen, die nach 3 Wochen Dunkel-kultur im obersten Drittel ergrünt, im Brutofen auf 24 Stunden gebracht intensiv bis auf den Boden ergrünen. Diese zeigten dann nach:	1 Tag	0·007	*b*: Gelb mit grüner Fluo-reszenz, geringe Spur von Pyocyanin
		1 Monat		*b*: Gelb mit grüner Fluo-reszenz, kein Pyocyanin, wohl aber nach Sauer-stoffdurchgang
		1 Tag	0·007	*c*: Grünbraun, Spur von Pyocyanin, Pyophaein
		1 Monat		*c*: Rotbraun, kein Pyocya-nin, Pyophaein deutlich
6	Von Stamm III beimpfte Röhrchen mit Bouillon + *aqua destillata* (1 : 10) ergaben:	10 Tage	0·014	*a*: Schwach ergrünt, wenig Pyocyanin, nach 20 Ta-gen gleich viel Cyanin wie in *b*.
				b: Stärker ergrünt, mehr Pyocyanin, kein Pyo-phaein
				c: Grünbraun, kein Cya-nin, wohl aber Phaein
	Von Stamm III beimpfte Bouillon + Quellwasserröhr-chen (1 : 10) durch Auskochen sterili-siert ergaben:	10 Tage	0·014	*a*: Tief chromgrün, Fluo-reszin in Spuren, Cyanin reichlich
				b: Zinnobergrün, Fluores-zin wenig, Cyanin wenig
				c: Schwach gelbgrün fluo-reszierend. Fluoreszin wenig, kein Cyanin

Versuchsnummer	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Lichtintensität	Resultat
7	Von Stamm IX *Pyocyaneus* chromgrün beimpfte Peptonwasserröhrchen ergaben:	4 Wochen	0·018	*a*: Mäßige Trübung, graugrün, Cyanin und Phaein vorhanden
				b: Geringe Trübung, schwach blaugrün, nur Cyanin vorhanden
				c: Starke Trübung und Sedimentierung, gelb, Xanthose und Phaein vorhanden
				e: Minimale Trübung, keine Pigmentierung
				f: Starke Trübung, keine Pigmentierung

a: Lichtkultur bei Luftzutritt.
b: Lichtkultur bei Paraffinölabschluß.
c: Lichtkultur bei Terpentinölabschluß.
d: Dunkelkultur bei Luftzutritt.
e: Dunkelkultur bei Paraffinölabschluß.
f: Dunkelkultur bei Terpentinölabschluß.

Es erfolgt also unter Einfluß der Strahlung auch bei Sauerstoffabschluß eine Bildung des Chromogens, in Peptonwasser wird dasselbe zum Pigment oxydiert. Der hierzu notwendige Sauerstoff wird wohl durch Abspaltung aus einer Säure, etwa der für den *Pyocyaneus* nachgewiesenen Amidobernsteinsäure gewonnen. Wird als Abschlußmittel an Stelle von Paraffin Terpentinöl genommen, so wird durch das darin enthaltene Ozon das Cyanin zum Phaein oxydiert.

3. Die Wirkung der Bestrahlung mit der Uviol- und mit der Quarzlampe, insbesondere hinsichtlich der Farbstoffabscheidung.

Im allgemeinen wurden diese Versuche folgendermaßen durchgeführt: Die Nährböden, die bei diesen Arbeiten zur Verwendung kamen, wurden stets gleichmäßig mit 2 Tropfen einer stark verdünnten Bakterienaufschwemmung beschickt. Zur Aufschwemmung war physiologische Kochsalzlösung, destilliertes Wasser oder verdünnte Bouillon stets mit gleichem Resultate verwendet worden. Als Nährboden wurden, da die Ergebnisse auf verschiedenen Nährböden wie in den im vorhergehenden besprochenen Versuchen die gleichen waren, nur anfänglich festflüssige Medien, später nur mehr Agar verwendet. — Es hat ja übrigens auch Ward gefunden, daß es sich bei der Wirkung der Strahlung auf Bakterienkulturen, nicht um eine Wirkung auf den Nährboden handle, sondern daß das Licht, wie auch Bovie neuerdings feststellte, direkt auf die Zelle und nicht durch Bildung von Toxinen im Medium wirke. Die Wirkung der Höhensonne und der Quarzlampe war im wesentlichen die gleiche. Die Bestrahlung der besäten Platten erfolgte in lichtdichten Blechkassetten, in deren Deckel sich je zwei Fenster zum Lichteinlaß befanden, die nach der Bestrahlung sofort wieder durch eine verschiebbare Blechplatte verschlossen werden konnten. Hinter den Fenstern konnten auf der Unterseite des Deckels die festen oder die Kuvetten mit den flüssigen Filtern angebracht werden. Nach der Bestrahlung kamen die Kulturen auf 20 Stunden in den

Brutofen von 37° C, um dann bei der Lufttemperatur des Laboratoriums von 15 bis 20° C zu verbleiben. Außer solchen frisch besäten Platten kamen auch bereits gut gewachsene und pigmentierte, ferner solche, die besät und dann gleich bebrütet worden waren, zur Bestrahlung. Als feste Filter fanden »Jenaer Gläser« der Firma Schott mit λ 620-ultrarot und λ 523-ultrablau als flüssige *aqua destillata*, konzentrierte Lösungen von Alaun, Kalibichromat, Kupferchlorid, Kupferoxydammoniak, Eosin, ferner Petroleum von 10 *mm* Schichtendicke Verwendung.

Die verwendete künstliche Höhensonne war eine Lampe von 220 Volt, die Quarzlampe eine solche von 110 Volt. Die Strahlungsintensitäten betrugen in der Entfernung der Präparate von 50 *cm* 0·633 B. E. beziehungsweise 0·425 B. E. Das Wirkungsquantum (*h*) der Bestrahlung entsprach also dem der totalen Lichtintensität für Wien etwa des Monats April, 12 Uhr. Um die Wirkung der durch die Bestrahlung bewirkten Erwärmung der Präparate festzustellen wurden Parallelversuche angestellt, bei welchen der eine Teil der Platten während der Bestrahlung unter Wasserkühlung gehalten wurde.

Das Kulturmedium wies nach beendeter Bestrahlung bei den gekühlten Platten eine Temperatur von 15 bis 20° C, bei den ungekühlten von 40 bis 45°C auf. Bei letzteren trat die Wirkung der Bestrahlung rascher ein als bei den gekühlten, sonst änderte sich an den hier zu besprechenden Wirkungen nichts.

Die Angaben über die Zeitdauer der Bestrahlung beziehen sich in der folgenden Tabelle auf die Versuche ohne Wasserkühlung, da diese bei den späteren Versuchen fortgelassen wurde, und bei Behandlung mit der Höhensonne. Wo Abweichungen vom hier geschilderten Versuchsverfahren statthatten, wurden sie in der »Versuchsanordnung« der Tabelle angegeben.

Tabelle 2.

Pyocyaneus- und Fluoreszens-Kulturen mit der Quecksilberlampe bestrahlt.

Versuchsnummer	Versuchsanordnung	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
8	Von Stamm II *Pyocyaneus* chromgrün, im Dunkeln gut gewachsene, chromgrüne Agarplatten, 5 Tage alt, ergaben:	15 Minuten	1. Alaun	Nach 24 Stunden Bebrütung } unverändert Ohne » }
			2. Kalibichromat	
			3. Kupferchlorid	Nach 24 Stunden Bebrütung } braun verfärbt, reichliches Pyophaein vorhanden Ohne Bebrütung }
			4. Kupferoxydammoniak	
9	Von den bestrahlten Platten des Versuches 8 wurden neue Platten besät und diese frisch besäten ergaben:	15 Minuten	1. Alaun	Fluoreszierend; Fluoreszin deutlich, Cyanin in Spuren
			2. Kalibichromat	Grasgrün; Fluoreszin reichlich, Cyanin wenig
			3. Kupferchlorid	Am besten gewachsen; intensiv grasgrün; Fluoreszin vorhanden, desgleichen Cyanin
			4. Kupferoxydammoniak	Schwach blaugrün; Fluoreszin wenig, Cyanin reichlich

10	Von demselben Stamm II frisch besäte Agarplatten ergaben:	15 Minuten	1. Alaun	Starke Pigmentbildung, grasgrün; Fluoreszin reichlich, Cyanin wenig
			2. Kalibichromat	Desgleichen
			3. Kupferchlorid	Schwächere Pigmentbildung, grasgrün; wenig Fluoreszin, Cyanin mehr als in 1. und 2.
			4. Kupferoxydammoniak	Wie in 3.; größte Cyaninmenge
11	Vom selben Stamm II frisch besäte Agarplatten vorerst 20 Stunden bebrütet, dann ergab:	15 Minuten	1. Alaun	Reichlich Fluoreszin, wenig Cyanin. Nach der Bestrahlung keine Erhöhung der Pigmentierung
			2. Kalibichromat	
			3. Kupferchlorid	Wenig Fluoreszin, mehr Cyanin als in 1. und 2. Nach der Bestrahlung keine Erhöhung der Pigmentierung
			4. Kupferoxydammoniak	
12	Vom selben Stamm II frisch besäte Agarplatten bestrahlt, dann 2 Stunden bebrütet und wieder bestrahlt	30 Minuten + 30 Minuten	1. Alaun	Wenig gewachsen, hellgrün, wenig Cyanin
			2. Kupferchlorid	Gut gewachsen, grasgrün, mehr Cyanin als in 1.

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
13	Von Stamm IV, *Pyocyaneus* pigmentschwach, frisch besäte Agarplatten ergaben:	45 Minuten	1. Aqua destillata	Steriles Fenster, Rand bewachsen stark fluoreszierend, Fluoreszin reichlich. Cyanin keines
			2. Alaun	Desgleichen; Fluoreszinmenge zu der der Kontrolle = 3 : 1
			3. Kalibichromat	Zentrale Partie farblos, schwach gewachsen; Rand gelbgrün fluoreszierend, Cyanin keines
			4. Kupferoxydammoniak	Zentrale Partie schwach gewachsen. Rand chromgrün, Cyanin vorhanden
			5. Unbestrahlte Platte (Kontrolle)	Schwach gewachsen, gelbgrün fluoreszierend. Cyanin in Spuren, Fluoreszin deutlich

14	Von Stamm V, *Pyocyaneus* chromgrün, frisch besäte Platten ergaben:	1 Stunde 15 Minuten	0	Steriles Fenster; Rand gut bewachsen, grasgrün, Cyanin minimal fluoreszierend, Fluoreszin wenig
			Rot λ 620-ultrarot	Schwach gewachsen, stark fluoreszierend; Fluoreszin reichlich, Cyanin in Spuren
			Blau λ 523-ultra	Gut gewachsen, intensiv grasgrün; wenig Fluoreszin und Erythrin minimal, Cyanin reichlich
			Kontrolle	Schwach gewachsen, hellgrün; Fluoreszin und Cyanin vorhanden
15	Desgleichen frisch besäte Agarplatten ergaben:	1 Stunde	0	Steriles Fenster, Rand schön grasgrün; Fluoreszin und Cyanin vorhanden
			0	Unter Paraffinöl: gut und gleichmäßig gewachsen, farblos
			0	Unter Terpentinöl: steril
			Kontrolle	Mäßig gewachsen, grasgrün; Fluoreszin und Cyanin vorhanden

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
16	Desgleichen frisch besäte Gelatinplatten ergaben:	1 Stunde	0	Gut gewachsen, schön grasgrün; Cyanin und Xanthose deutlich
			0	Unter Paraffinöl: mäßig gewachsen, nach 2 Tagen blaugrün, fluoreszierend, nach O-Einleitung deutlich Cyanin, keine Xanthose
			Kontrolle	Mäßig gewachsen, Cyanin und Xanthose vorhanden
17	Von den Kulturen des Versuches 13 wurden frische Platten beimpft, durch 30 Minuten bestrahlt, von diesen Kulturen wieder neue am folgenden Tage mit gleicher Behandlung gezüchtet u. s. f. wurden 10 Generationen gezüchtet. Die 10. Generation ergab:	30 Minuten	1. Aqua destillata	Steriles Fenster, Rand schön gelbgrün fluoreszierend; Fluoreszinmengen schwankend in den aufeinanderfolgenden Generationen; eine Vermehrung in den aufeinanderfolgenden Generationen tritt nicht ein; Cyanin keines
			2. Alaun	
			3. Kalibichromat	Desgleichen; Fluoreszinmenge dieser Generation kleiner als die der 3. und 4. Generation; Cyanin keines
			4. Kupferoxydammoniak	Fluoreszinmenge kleiner als in 1., 2. und 3. Cyanin nicht nachweisbar
			5. Kontrolle	Fluoreszinmenge zu der von 3 = 1·3. Cyanin in Spuren

18	Von Stamm V frisch besäte Agarplatten ergaben:	1 Stunde	0	Zentrale Partie schwach, sonst gut gewachsen, grasgrün. Fluoreszin und Cyanin vorhanden
	Desgleichen		0	Unter Paraffinöl: schwach gewachsen, farblos
	Von Stamm V frisch besäte Zuckeragarplatten ergaben:		0	Gut gewachsen. zinnobergrün, viel Fluoreszin, Cyanin nicht nachweisbar
	Desgleichen		0	Unter Paraffinöl: schwach gewachsen, farblos
19	Von Stamm IV *Pyocyaneus*-Pigment schwach frisch besäte Agarplatten ergaben:	1 Stunde	Aqua destillata	Unter Paraffinöl: gut und gleichmäßig gewachsen, farblos
			Aqua destillata	Vereinzelte Kolonien gewachsen, schwach grasgrün, Fluoreszin und Cyanin vorhanden
			0	Vereinzelte Kolonien gewachsen, schwach gelbgrün, Cyanin fehlt

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
20	Von Stamm V frisch besäte Agarplatten ergaben:	1 Stunde 30 Minuten	0	1. Steriles Fenster, Rand bewachsen, zinnobergrün, Fluoreszin oxydiert
			Kontrolle	2. Mäßig gewachsen, grasgrün, weniger Fluoreszin als in 1.
		1 Stunde	0	Steriles Fenster, Rand bewachsen, grasgrün, Fluoreszin und Cyanin hier vorhanden
			Kalibichromat	Zentrale Partie farblos, sonst gelbgrün; gleichmäßig gewachsen, kein Cyanin
			Rot	Unter Paraffinöl: schwach gewachsen, farblos
			Blau	

21	Von Stamm VI *Fluoreszens liquefaziens*, frisch besäte Agarplatten ergaben:	1 Stunde 30 Minuten	1. 0	Steriles Fenster, Fluoreszin oxydiert	gelbgrün, nicht fluoreszierend
			2. Kalibichromat	Schwach gewachsen, Fluoreszin oxydiert	
			3. Kupferchlorid	Schwach gewachsen, weniger Fluoreszin als in 2.	grasgrün, fluoreszierend
			4. Rot	Schwach gewachsen, reichlich Fluoreszin	
			5. Blau	Schwach gewachsen, Fluoreszin zum vorhergehenden = 1 : 3	

Versuchsnummer	Versuchsanordnung	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
22	Von Stamm V frisch besäte Agarplatten zeigten:	55 Minuten	1. Kalibichromat	Schwach gewachsenes Fenster, dann gelbgrüner bis zinnobergrüner Hof, Rand chromgrün, Cyaninmenge hier größer als im Zentrum. Fluoreszin umgekehrt
		90 Minuten		Fluoreszin im Zentrum, das gelb u. nicht fluoreszierend oxydiert, Cyanin minimal
		90 Minuten	2. 0	Steriles Fenster, sonst zinnobergrün, wenig Cyanin, mehr Xanthose, Fluoreszin reichlich, aber oxydiert
		55 Minuten	3. Eosin	Schwach gewachsen, prachtvoll grasgrün fluoreszierend, größte Fluoreszinmenge
		90 Minuten		Sehr wenig gewachsen, nur Rand der Platte gelbgrün fluoreszierend, sonst gelblich, Fluoreszinmenge < als 53 Minuten
		55 Minuten	4. Kupferoxydammoniak	Gut gewachsen, chromgrün, Cyanin und Xanthose reichlich. Cyanin 3fache Menge von Versuch 3.
		90 Minuten		Schwächer gewachsen und pigmentiert als bei 55 Minuten Bestrahlung, zentrale Partie nahezu farblos, Rand gelbgrün, Fluoreszin oxydiert, Xanthose u. Phaein reichlich
			5. Kontrolle	Mäßig gewachsen, grasgrün fluoreszierend, Fluoreszin und Cyanin vorhanden

23	Von Stamm VII *Fluoreszens liquefaziens* frisch besäte Agarplatten zeigten:	50 Minuten	Petroleum	Wenig gewachsen. bestrahlte Zone farblos, nur im Bereiche der Randstrahlen zinnobergrün fluoreszierend
			Kontrolle	Fast farblos gewachsen, geringe Menge Fluoreszin
		40 Minuten	1. Aqua destillata	Steriles Fenster, wenig gewachsen sonst, wenig Fluoreszin
			2. Rot	Mäßig gewachsen, grünleuchtende Fluoreszenz, viel mehr Fluoreszin als in 1. (1 : 3·7)
			3. Kupferchlorid	Desgleichen
			4. Blau	Besser gewachsen, zinnobergrün, Fluoreszin stärker oxydiert als im vorhergehenden Versuch
			5. Kontrolle	Mäßig gewachsen, wenig Fluoreszin
24	Von Stamm VIII *Fluoreszens liquefaziens* desgleichen:	50 Minuten	Petroleum	Sehr wenig gewachsen, farblos
			Kontrolle	Gut gewachsen, Fluoreszin deutlich

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
25	Von Stamm IX *Pyocyaneus* chromgrün frisch besäte Agarplatten zeigten:	10 Minuten und 30 Minuten	1. 0	Von allen 5 Parallelversuchen am wenigsten gewachsen, gelbgrün, Fluoreszin und Cyanin vorhanden
			2. Alaun	Etwas mehr gewachsen, gelbgrün, Fluoreszin und Cyanin vorhanden
			3. Kalibichromat	Gut gewachsen, zinnobergrün, Fluoreszin stärker fluoreszierend als in 1. und 2., Cyanin wenig vorhanden
			4. Kupferchlorid	Am besten gewachsen Platte, die nur 10 Minuten bestrahlt wurde, andere gut gewachsen, chromgrün, Fluoreszin wenig, Cyanin mehr als in übrigen Parallelversuchen
			5. Kontrolle	Gut gewachsen, chromgrün, Fluoreszin vorhanden, Cyanin weniger als im vorhergehenden
		4 Minuten	0	Etwas dünner bewachsenes Fenster, gelbgrün; sonst grasgrün fluoreszierend

26	Desgleichen	35 Minuten und 40 Minuten	0	Steriles Fenster. sonst gut gewachsen, gelbgrün, Fluoreszin gelb, Xanthose reichlich
			Rot	Schwach gewachsen, schön grasgrün fluoreszierend, Fluoreszin reichlich, Cyanin wenig
			Blau	Schwächer gewachsenes Fenster, sonst am stärksten gewachsen und pigmentiert, grasgrün, Fluoreszin wenig, Cyanin reichlich
			Kalibichromat	Wie rot, Fluoreszin weniger fluoreszierend
		Kontrolle		Mäßig gewachsen, hellgrün

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
27	Desgleichen	45 Minuten und 50 Minuten	0	Steriles Fenster, sonst gut gewachsen, gelbgrün wie im Versuch Nr. 26
			Rot	Wie im Versuch Nr. 26
			Blau	Nur einige Kolonien im Fenster gewachsen, sonst wie im Versuch Nr. 26
			Kalibichromat	Schwach bewachsenes Fenster, sonst wie im Versuch Nr. 26
		Kontrolle		Mäßig gewachsen, grasgrün fluoreszierend, reiche Pigmentausbeute

28	Desgleichen	40 Minuten	0	Steriles Fenster; am Rand gelbgrün und gut gewachsen
			Rot	Schwach gewachsen, schön grasgrün fluoreszierend
			Blau	Schwach gewachsenes Fenster, sonst sehr schön gewachsen, chromgrün
			Kalibichromat	Schwächer als im Rot gewachsen; gelbgrün, wenig fluoreszierend
		Kontrolle		Gut gewachsen; chromgrün

Die Ergebnisse dieser Versuche lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Bei Bestrahlungen ohne Filter zeigt sich eine Schädigung des Bakterienrasens im verminderten Wachstum der unter dem Fenster gelegenen, direkt bestrahlten Fläche schon bei einer Bestrahlungsdauer von nur 4 Minuten. Eine Sterilisierung der Fläche ergibt sich bei der 10fachen Bestrahlungsdauer in 40 Minuten. Durch Ausschaltung von Strahlungsbezirken in den Lichtfiltern wird die Lichthemmung entsprechend gemindert. In dieser Hinsicht waren die Versuche Nr. 25 am instruktivsten. Das Wachstum hinter dem Alaunfilter, das die gesamten »farbigen« Strahlen durchläßt, ist gegenüber dem hinter den andern Filtern am geringsten. Daß kurze schwache Bestrahlungen mit einem engen Spektralbezirke die gerade gegenteilige Wirkung haben, scheint mir aus den Versuchsergebnissen (Nr. 25 und 26) bei Verwendung des Kupferchlorids und des Blaufilters hervorzugehen. Bei einer Bestrahlungsdauer von 10 Minuten waren diese Platten am stärksten bewachsen; wurde die Expositionszeit verlängert, so verblieb nur dem von der geringeren Strahlenmenge getroffene Randanteil des Rasens fortschreitende Wachstumstendenz, während im Zentrum sich allmählich die Lichthemmung einstellte. Diese Hemmung nimmt für das kurzwellige Licht viel rascher als für das langwellige zu, wie die Versuche in Nr. 27 gegenüber denen von Nr. 26 zeigen, weil eben die verwendeten Lichtquellen reich an kurzwelliger Strahlung sind. Die Abscheidung von Fluoreszin wird im allgemeinen durch langwelliges Licht, die des Cyanins, durch kurzwelliges hauptsächlich gefördert. Dieser Reiz für die Pigmentabsonderung läßt sich nur vor Bebrütung der Platte ausüben. Ist die Bestrahlung zu intensiv — wie die Versuche ohne Verwendung eines Filters zeigen — oder zu lang andauernd, so tritt eine raschere Oxydation unserer Pigmente ein, die sich durch eine gelbgrüne bis gelbe Färbung bei Mangel von Fluoreszenz einerseits (Oxydation des Fluoreszins), andrerseits durch Bildung von Xanthose oder Phaein äußert. In dieser Hinsicht sind die

Versuche Nr. 20, 21 und 22 von Interesse. Während die Bestrahlungsdauer von 55 Minuten das vorhin besprochene Resultat, Förderung der Fluoreszinproduktion im schwachen langwelligen (besonders schön hinter dem Eosinfilter) und der Cyaninproduktion im stärkeren, kurzwelligen Lichte zeigt, ist bei einer Bestrahlung von mehr als 1 Stunde eine Hemmung der Pigmentierung durch rasche Oxydation der Farbstoffe zu beobachten, die sich als eine Verfärbung in Gelb dem Auge zu erkennen gibt. Das Fluoreszin ist mißfarbig gelb, zeigt keine Fluoreszenz. Xanthose ist reichlich vorhanden. Diese u. a. von Gaillard beobachtete Pigmentzerstörung bei Bakterien durch Strahlung ist also auf eine weitgehende Oxydation des Farbstoffes zurückzuführen und entspricht der Ausbleichung in unseren Versuchen mit Hilfe der Elektrolyse. Die pigmentzerstörende Wirkung der Strahlung zeigt sich bei unseren Bakterien am deutlichsten bei einer Bestrahlung von 1 Stunde 30 Minuten hinter dem Kupferoxydammoniakfilter, wo die Fläche unter dem Fenster farblos erscheint. — Die Versuche mit Kulturen von pigmentschwachen Stämmen zeigen ein dem geschilderten entsprechendes Verhalten. Eine Steigerung der Fluoreszinproduktion ließ sich in 10 aufeinanderfolgenden Generationen nicht erblich fixieren. Wurden von Platten, auf denen durch Lichtreiz eine Erhöhung der Fluoreszinproduktion erzielt worden war, neue abgeimpft und diese im Dunkeln gezogen, so trat stets wieder eine Verminderung der Fluoreszinproduktion und Ausscheidung von Pyocyanin ein, das in den bestrahlten Kulturen verschwunden war. Eine Überführung des *Pyocyaneus*-Typus in den des *Fluoreszens liquefaciens* gelang also nicht.

Daß die Wachstumshemmung bei Bestrahlung, wie sie sich unmittelbar unter dem Fenster der Kassetten in manchen obiger Versuche zeigt, in erster Linie auf eine Überhöhung der Atmung zurückzuführen ist, zeigen die Versuche, in denen die Kultur mit Paraffinöl abgeschlossen wurde; hier war die Agarplatte gleichmäßig bewachsen. — Pigmentbildung trat erst nach Tagen und sehr gering auf. — Wurde jedoch der Kultur durch Terpentinöl Ozon zugeführt, so trat

Atmungstod ein, die Platte war steril. Die folgenden Versuche im Sonnenlichte werden zeigen, daß zu dieser Schädigung bei Bestrahlung noch eine spezifische Wirkung des Lichtes hinzutreten kann.

4. Die Einwirkung der Bestrahlung mit Sonnenlicht und die Wirkung des ausgeschiedenen Pyocyanins.

Die Röhrchen und Plattenkulturen wurden im Freien im Monate Juni der Sonnenbestrahlung ausgesetzt bei andauernd günstiger Witterung ($S_{3-4} B_{1-4}$). Um festzustellen, ob die hierdurch bedingte Erwärmung der Präparate die Ergebnisse qualitativ ändere, wurden in einzelnen Versuchen mit Plattenkulturen die Kästchen in Eiswasser gestellt. Diese Beeinflussung trat nicht ein; die Erwärmung bewirkte nur eine Beschleunigung der Ergebnisse. Bei den Plattenkulturen wurde auch hier die Bestrahlung durch Öffnung der Fenster vorgenommen, während die Röhrchen aus dem diffusen Lichte hinter der Mattscheibe des Laboratoriumfensters, ins Sonnenlicht gebracht wurden.

Diese Ergebnisse zeigen keinen wesentlichen Unterschied zwischen den Befunden bei Einwirkung des Sonnenlichtes allein, dieses Lichtes zusammen mit diffusem Licht und schließlich bloß des diffusen Lichtes. Entsprechend der größeren Intensität der Sonnenstrahlung erscheint die Fluoreszinbildung gefördert, die Cyaninbildung ist anfänglich geringer. Später tritt aber eine auffallende Vermehrung der Cyaninausscheidung ein, so daß nach 4 bis 6 Wochen die Bouillonkulturen bis zum Boden des Röhrchens tief ergrünt sind. Durch Vergleich mit den Dunkelkulturen zeigte sich nun, daß nicht etwa weniger Chromogen im Lichte produziert wird, was sich durch Einleiten von Sauerstoff nachweisen ließ, sondern daß anfänglich die Oxydation der Cyanobase zum Cyanin im Lichte und besonders im Sonnenlichte eine geringere ist als in den Dunkelkulturen. Das später eintretende starke Ergrünen der Bouillon wird nicht durch eine stärkere Pigmentproduktion, sondern durch eine stärkere Oxydation der Base verursacht.

Tabelle 3 *A*.

Röhrchenkulturen bei zeitweiliger Sonnenbestrahlung.

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Mittlere Lichtintensität	Luftzutritt	Resultat
29	Von Stamm III *Pyocyaneus* grasgrün, beimpfte Bouillonröhrchen ergaben, nachdem sie 20 Stunden bebrütet wurden nach:	14 Tage, tägliche Bestrahlung von 11^h bis 13^h	0·650	Wattepfropfen	Starke Trübung; grasgrüne Zone an der Oberfläche, sonst gelbgrün fluoreszierend; Fluoreszin und Cyanin vorhanden
				Paraffinölabschluß	Mäßige Trübung; schwach gelbgrün fluoreszierend; Fluoreszin vorhanden, Cyanin erst nach Sauerstoffeinleitung
				Terpentinölabschluß	Starke Trübung; grünbraun ohne Fluoreszenz; Fluoreszin oxydiert, kein Cyanin nach Sauerstoffdurchtritt
			Kontrolle bei Luftzutritt im Dunkeln		Starke Trübung; im oberen Drittel grasgrüne Wolken, Fluoreszin und Cyanin vorhanden

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Mittlere Lichtintensität	Luftzutritt	Resultat
30	Von Stamm III beimpfte Peptonwasser-röhrchen ergaben nach 20 Stunden Bebrütung bei:	Desgleichen	0·650	Wattepfropfen	1. Mäßige Trübung, schwach blaugrün; Cyanin und Xanthose nachweisbar
				Paraffinölabschluß	2. Mäßige Trübung, schön blaugrün; nur Cyanin vorhanden
				Terpentinöl-abschluß	3. Starke Trübung, gelbbraun; Xanthose und Phaein vorhanden
			Kontrolle desgleichen		4. Mäßige Trübung; weniger Cyanin als in 2 vorhanden
31	Von Stamm VII *Fluoreszens liquefaciens* beimpfte Bouillonröhrchen ergaben nach 20 Stunden Bebrütung:	Desgleichen	0·650	Wattepfropfen	1. Starke Trübung; schön gelbgrün fluo-reszierend. Fluoreszin reichlich
				Paraffinölabschluß	2. Mäßige Trübung; schwache Gelb-färbung mit Spur von Fluoreszenz, Fluoreszin gering
				Terpentinöl-abschluß	3. Gute Trübung; gelblich ohne Fluores-zenz, Fluoreszin bräunlich in Spuren
			Kontrolle desgleichen		4. Starke Trübung; gelbgrün fluoreszie-rend, Färbung an der Oberfläche am stärksten; weniger Fluoreszin als in 1.

32	Von Stamm VII *Fluoreszens liquefaciens* beimpfte Peptonwasserröhrchen ergaben nach 20 Stunden Bebrütung:	Desgleichen	0·650	Wattepfropfen	Mäßige Trübung; gelblich mit Spur von Fluoreszenz, Fluoreszin in Spuren
				Paraffinölabschluß	Geringe Trübung; gelblich, Fluoreszin in Spur
				Terpentinöl-abschluß	Mäßige Trübung; bräunliche Tonung
			Kontrolle desgleichen		Mäßige Trübung; farblos
33	Von Stamm IX *Pyocyaneus* chromgrün beimpfte Bouillonröhrchen ergaben nach 20 Stunden Bebrütung	10 Tage; 8 aufeinanderfolgende Tage 12^{h} bis 13^{h} bestrahlt	0·815	Wattepfropfen	1. Starke Trübung; oberstes Drittel der Flüssigkeit, schön grasgrün, sonst gelbgrün fluoreszierend, Fluoreszin und Cyanin vorhanden
				Paraffinölabschluß	2. Mäßige Trübung; gelbgrün fluoreszierend, Fluoreszin vorhanden. Cyanin nach Sauerstoffeinleitung
				Terpentinöl-abschluß	3. Starke Trübung; grünbraun, Fluoreszin braun, Phacin vorhanden
			Dunkelkultur bei Paraffinöl-abschluß		4. Minimale Trübung; Spur von Fluoreszin
			Dunkelkultur bei Terpentinöl-abschluß		5. Stärker als 4 gewachsen; farblos

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Versuchsdauer	Mittlere Lichtintensität	Luftzutritt	Resultat
34	Von Stamm IX desgleichen beimpfte Peptonwasserröhrchen ergaben:	10 Tage; 8 aufeinanderfolgende Tage 12^h bis 13^h bestrahlt	0·815	Wattepfropfen	1. Mäßige Trübung; graugrün, Cyanin Xanthose und Phaein nachweisbar
				Paraffinölabschluß	2. Mäßige Trübung; prachtvoll blaugrün, nur Cyanin vorhanden
				Terpentinölabschluß	3. Mäßige Trübung; braun, Xanthose und Phaein vorhanden
			Dunkelkultur bei Paraffinölabschluß		4. Trübung kaum sichtbar; farblos
			Dunkelkultur bei Terpentinölabschluß		5. Des gleichen
			Dunkelkultur bei Luftzutritt		6. Mäßige Trübung; blaugrün, Cyanin vorhanden

Tabelle 3 *B*.

Röhrchenkulturen im diffusen Tageslichte, die täglich 30 Minuten der Sonnenbestrahlung ausgesetzt waren.

(Mittlere Intensität des diffusen Lichtes = 0·048 des Sonnenlichtes = 0·526.)

Versuchs-nummer	Versuchs-anordnung	Resultat
35	Vom Stamm III *Pyocyaneus* grasgrün beimpfte Bouillonröhrchen ergaben nach 20 Stunden Bebrütung:	*a*: Nach 7 Tagen minimale grüne Zone unter dem Häutchen; nach 15 Tagen starke Trübung; nach 21 Tagen oberstes Drittel ergrünt; nach 28 Tagen bis zum Boden ergrünt; nach 6 Wochen tief chromgrün, Fluoreszin zu dieser Zeit reichlich und gut fluoreszierend, Cyanin, Xanthose und Phaein vorhanden. Agarplattenausstrich geringes Wachstum
		b: Nach 7 Tagen Trübung viel geringer als in *a*; nach 15 Tagen stärker geworden, irisierend; nach 28 Tagen intensive gelbe Färbung; nach 6 Wochen weitere Zunahme der Trübung. Ergrünen nach Einleitung von Sauerstoff, also infolge Oxydation der Zyanoleukobase
		d: Nach 7 Tagen deutliche grüne Schichte unter dem Häutchen, Trübung geringer als in *a*; nach 15 Tagen stark ergrünt; oberstes Drittel nach 21 Tagen ergrünt; nach 6 Wochen nur Boden keine Grünfärbung. Fluoreszin vorhanden, intensives Ergrünen nach Einleiten von Sauerstoff infolge Zunahme des Cyanins, Xanthose und Phaein in geringer Menge, weniger als in *a*
		e: Nach 7 Tagen minimales Wachstum, kein Häutchen, keine Pigmentabsonderung; nach 15 Tagen farblos; nach 28 Tagen gelbe Färbung; sehr geringe Trübung auch noch nach 6 Wochen. Geringe Menge von Fluoreszin, Cyanin nicht nachweisbar

Versuchs-nummer	Versuchs-anordnung	Resultat
36	Desgleichen Peptonwasser-röhrchen ergaben:	*a*: Nach 7 Tagen geringe Trübung, zart blaugrün; nach 15 Tagen grün mit bräunlicher Verfärbung. Cyanin, Xanthose, Phaein vorhanden; nach 21 bis 28 Tagen Zunahme des braunen Farbentones, Trübung minimal, desgleichen Wachstum auf Agarplatte
		b: Nach 7 Tagen geringe Trübung wie in *a*. Deutliche blaugrüne Färbung nach 21 Tagen; nach 6 Wochen Xanthose nachweisbar; nach 2 Monaten olivgrün, Phaein neben Cyanin und Xanthose vorhanden
		d: Nach 7 Tagen zart blaugrün; auch nach 15 Tagen noch wenig getrübt; nach 21 Tagen intensiv blaugrün; nach 6 Wochen unverändert, starkes Sediment, Cyanin und Xanthose vorhanden
		e: Nach 15 Tagen farblos, irisierend, sehr schwach getrübt; nach 6 Wochen farblos, minimale Trübung und minimales Sediment
37	Von Stamm IX *Pyocyaneus* chromgrün beimpfte Bouillon-röhrchen ergaben nach 20 Stunden Bebrütung:	*a*: Nach 4 Wochen starke Trübung bis zum Boden ergrünt. Alle Pigmente vorhanden. Agarplattenausstrich steril
		b: Nach 4 Wochen Trübung geringer als in *a*, gelbe Färbung mit schwacher grüner Fluoreszenz. Fluoreszin in Spuren, Cyanobase vorhanden
		c: Nach 4 Wochen starke Trübung, keine Pigmentabscheidung. Von dieser Kultur nach 2 Monaten Aussaat auf Agarplatte wächst gut mit Pigmentabsonderung
		d: Nach 4 Wochen oberstes Drittel ergrünt, starke Trübung. Alle Pigmente vorhanden
		e: Nach 4 Wochen keine Pigmentabsonderung, schwache Trübung
		f: Wie in *e*.

Versuchs-nummer	Versuchs-anordnung	Resultat
38	Desgleichen Peptonwasser-röhrchen ergaben :	*a* : Nach 4 Wochen gut getrübt, blaugrün jedoch verfärbt. Cyanin und seine Oxydationsprodukte vorhanden
		b: Nach 4 Wochen gleich getrübt wie *a*, intensiv blaugrün, mehr Cyanin als in *a*, jedoch Xanthose nur in Spuren
		c : Nach 4 Wochen geringe Trübung, jedoch starke Sedimentierung, Spur von Gelbfärbung. Xanthose vorhanden
		d : Nach 4 Wochen wenig getrübt, intensiv blaugrün. Cyanin vorhanden, Xanthose in Spuren
		e : Nach 4 Wochen wenig getrübt, keine Pigmentabsonderung
		f : Nach 4 Wochen wenig getrübt, stärkere Sedimentierung. Spur von Gelbfärbung durch Xanthose

a : Lichtkultur bei Luftzutritt.
b : Lichtkultur bei Paraffinölabschluß.
c : Lichtkultur bei Luftabschluß mit Terpentinöl.
d : Dunkelkultur bei Luftzutritt.
e : Dunkelkultur bei Paraffinölabschluß.
f : Dunkelkultur bei Terpentinölabschluß.

Wurde in dieser Phase aus einer solchen Kultur abgeimpft, so zeigte sich geringes Wachstum, in einem Falle blieb die Platte steril. Es tritt also die Oxydation des Chromogens in verstärktem Maße zu einer Zeit auf, wo Wachstum und Lebenstätigkeit der Kultur vermindert sind, wohl eine Folge der Bestrahlung. Diese Tatsache stimmt mit der von Noesske gemachten Beobachtung überein, daß eine durch Kochen abgetötete *Pyocyaneus*-Kultur stark ergrünt. Da eine so abgetötete Kultur blaugrün bleibt, so schließt Noesske daraus, daß mit größter Wahrscheinlichkeit in den lebenden *Pyocyaneus*-Kulturen die Keime selber die Reduktion des Cyanins zur Leukobase durch Absorption des in denselben locker gebundenen Sauerstoffes vornehmen. Seine Behauptung, daß bei der floridesten Keimentwicklung die Cyaninbildung anscheinend am meisten gehemmt oder ganz sistiert werde, ist jedoch dahin zu ändern und zu ergänzen, daß hier das Chromogen in größter Menge ausgeschieden, aber auch sein Oxyd am stärksten reduziert wird, also am wenigsten Cyanin in Erscheinung tritt, in Bouillonkulturen. — Ein ganz anderes Verhalten zeigen die Kulturen im Peptonwasser. Wie schon die Versuche im diffusen Lichte ergaben, erfolgt hier keine Reduktion des Cyanins, das auch im Sonnenlichte unabhängig vom Sauerstoff der Luft entsteht. Ein Unterschied zwischen den Ergebnissen im Sonnenlichte bei Luftzutritt und bei Luftabschluß zeigt sich im Verhalten des Cyanins, indem dasselbe im ersteren Falle sich rasch weiter oxydiert, was bei Luftabschluß nicht der Fall ist.

Ich prüfte nun, ob das Fehlen des Fluoreszins in der Peptonwasserkultur vielleicht im Zusammenhang stünde mit dem Ausbleiben der Cyaninreduktion, indem ich der Kultur Fluoreszinlösung zusetzte; dies war nicht der Fall. Wohl tritt aber diese Reduktion ein, sobald einer lebenden Peptonkultur Bouillon zugesetzt wird oder wenn einer lebenden Bouillonkultur eine durch Kochen abgetötete blaue Peptonkultur oder eine Zyaninlösung zugesetzt wird. Es erscheint somit erwiesen, daß es sich bei der Reduktion des Pyocyanins um einen Lebensvorgang des Bakteriums, um

Sauerstoffgewinnung handelt, welcher Vorgang im Peptonwasser entweder auf ein Minimum beschränkt ist oder es wird der durch die Bestrahlung abgespaltene Sauerstoff überhaupt nicht verwendet. Darum erfolgt bei Luftzutritt im Sonnenlichte eine rasche Weiteroxydation des Cyanins. Werden bei Luftzutritt gewachsene grüne Bouillonkulturen von *Pyocyaneus* mit Paraffinöl überschichtet, so zeigt sich bereits nach etwa einer halben Stunde vom Boden des Röhrchens beginnend ein Erbleichen der Flüssigkeit, das nach obenhin fortschreitet, bis dieselbe in Gänze eine gelbgrün fluoreszierende Farbe angenommen hat. Durch Einleiten von Sauerstoff wird die grüne Farbe wieder regeneriert. Es ist dies ein Beweis dafür, daß in der Bouillonkultur der vom Pigment gebundene Sauerstoff nach Entzug des Luftsauerstoffes aufgebraucht worden ist und daß dem vom Pigment locker gebundenen Sauerstoff die gleiche Verwendung zukommt wie dem Luftsauerstoffe. Werden dagegen blaue Peptonkulturen von *Pyocyaneus* mit Paraffinöl überschichtet, so tritt keine Farbenänderung in der Flüssigkeit ein. Der vom Pigment in der Peptonkultur gebundene Sauerstoff hat keine weitere Bedeutung. Wir haben also im Pyocyanin ein Pigment vor uns, das je nach dem Kulturmedium entweder ein bedeutungsloses bakterielles Ausscheidungsprodukt ist oder aber sich so verhält wie Atmungspigmente, die Sauerstoff leicht an sich ketten, aber auch leicht wieder abgeben. — Die Reduktion des Cyanins erfolgt aber nicht nur in von der atmosphärischen Luft abgeschlossenen Kulturen. Frische, gut wachsende Bouillonkulturen ohne Ölabschluß sind bekanntlich nur an der Oberfläche von schön grüner Farbe, es ist also nur in den mit der Luft unmittelbar in Berührung stehenden Flüssigkeitsschichten Cyanin vorhanden, während die tieferen erst nach Schütteln oder Einleiten von Sauerstoff ergrünen, um nach einiger Zeit wieder das gelbgrüne Aussehen des Fluoreszins anzunehmen; mit dem Altern der Kultur breitet sich dann die grüne Farbe von der Oberfläche nach immer tieferen Schichten der Flüssigkeit aus. Es hat also nicht

nur bei Luftabschluß, sondern überhaupt in Bouillon das Pyocyanin die Aufgabe, von der Oberfläche der Flüssigkeit Sauerstoff nach tieferen Schichten der Flüssigkeit zu leiten, wo sonst nur wenig Sauerstoff zur Verfügung stünde und die aërobe Atmung der hier schwebenden Bakterien zu fördern. Daß die Atmung tatsächlich eine Förderung erfährt, das scheint mir insbesondere aus später noch zu besprechenden Versuchen hervorzugehen.

Ray Lankaster hat gefunden, daß *Spirographis Spallanzani* einen Farbstoff besitzt, der in Bindung mit Sauerstoff smaragdgrün (Chlorocruorin), ohne Sauerstoff rot (Erythrocruorin) erscheint und daß es des Schwefelammoniums oder der Stokes'schen Lösung bedarf, um ihm das O zu entziehen, um also einen den lebenden Geweben gleichen Effekt zu erzielen, während dies mit Wasserstoff oder Kohlendioxyd nicht gelingt. Krukenberg fand bei *Sipunculus nudus,* wo die Gewebeatmung eine geringere ist als bei jenem Röhrenwurme, daß das Hämoerythrin Griffith's schon nach längerem Einleiten von Kohlendioxyd seines Sauerstoffes verlustig wird. Bei Mollusken und im Krabbenblute fanden Frédéricq und Griffith ein Pigment, das mit Sauerstoff himmelblau, durch Kohlendioxyd oder Schwefelwasserstoff aber entfärbt wird, das Hämocyanin. Pfeffer und Ewart weisen für bekannte Farbstoffbakterien die Fähigkeit nach, Sauerstoff locker zu binden und an einen sauerstofffreien Raum abzugeben. Als verhältnismäßig viel Sauerstoff speichernd werden *Bacterium cinnabareum, Micrococcus agilis, Staphylococcus citreus, Bacillus janthinus* angeführt. Bei *Diplococcus roseus, Sarcina rosea* und *lutea* ist diese Fähigkeit schwächer ausgebildet. Diese Bakterien gaben, in die Gaskammer gebracht, nach Einleitung von Wasserstoff Sauerstoff ab, was durch Engelmann's Sauerstoffbakterienmethode nachgewiesen wurde. Außer dem *Bacterium cyanogenes, Micrococcus prodigiosus, Spirillum rubrum* wird auch dem *Pyocyaneus,* da durch molekularen Wasserstoff keine Pigmentreduktion erfolgt, die Fähigkeit der lockeren Bindung abgesprochen.

Tabelle 3 *C*.

Bestrahlung von Plattenkulturen durch Sonnenlicht.

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Strahlungs-intensität	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
39	Von Stamm V *Pyocyaneus* chrom-grün, frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·650	1 Stunde 40 Minuten	0	1. Steriles Fenster, sonst gut gewachsen, grasgrün, Fluoreszin, Cyanin, Xanthose vorhanden
				Rot	2. Schwächeres Wachstum unter dem Fenster, sonst grasgrün intensiv fluoreszierend, viel Fluoreszin, wenig Cyanin
				Kalibichromat	3. Schwächer gewachsen, gelbgrün, Fluoreszin kaum fluoreszierend, wenig Cyanin, aber Xanthose deutlich
				Blau	4. Kleines steriles Fenster, sonst Wachstum und Farbe intensiver als in 1., viel Cyanin, wenig Fluoreszin
			2 Stunden 30 Minuten	Rot	5. Kleines steriles Fenster, sonst weniger fluoreszierend als in 2., Fluoreszin stärker oxydiert, Cyanin minimal, Xanthose nachweisbar

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Strahlungs-intensität	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
Zu 39	Desgleichen mit Paraffinöl-abschluß:	0·650	1 Stunde 40 Minuten	Rot	1. Gleichmäßig schwach gewachsen, farblos, nach 2 Tagen schwach gelbgrün fluoreszierend, Fluoreszin und Cyanin nachweisbar, Erythrin vorhanden
				Blau	2. Gleichmäßig schwach gewachsen, farblos; nach 2 Tagen schwach gelbgrün fluoreszierend, weniger Pigmente als in 1. Erythrin nicht nachweisbar
			2 Stunden	0	1. Steriles Fenster, sonst schwach gewachsen, farblos; Spuren von Pigmentierung nach 4 Tagen
				Blau	2. Gleichmäßig schwach gewachsen; nach 3 Tagen schwach grünlich fluoreszierend
40	Von Stamm VI *Fluoreszens liquefaciens*, frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·650	2 Stunden	0	Steriles Fenster, Rand mäßig bewachsen, gelbgrün schwach fluoreszierend, Fluoreszin stark oxydiert
				Rot	Gut gewachsen, starke Fluoreszinausscheidung mit intensiver Fluoreszenz
				Blau	Sehr schwach gewachsenes Fenster, Rand schwächer gewachsen als in Rot, wenig Fluoreszin

Zu 40	Desgleichen mit Paraffinöl-abschluß:	0·650	2 Stunden	0	Steriles Fenster, sonst mäßig gewachsen; gelbgrün fluoreszierend
				Rot	Gut gewachsen; gelbgrün fluoreszierend
				Blau	Gut gewachsen; farblos
41	Von Stamm IX *Pyocyaneus* chromgrün, frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·815	1 Stunde 40 Minuten	0	1. Großes, steriles Fenster, sonst gut gewachsen, grasgrün
				Rot	2. Schwächeres Wachstum im Fenster, sonst gut gewachsen, grasgrün intensiv fluoreszierend, wenig Cyanin, Erythrin deutlich
				Kalibichromat	3. Schwach gewachsen, schwach zinnobergrün, Fluoreszin kaum fluoreszierend, Erythrin nicht nachweisbar, Cyanin in Spur, Xanthose deutlich
				Blau	4. Kleines steriles Fenster, Wachstum intensiver als in Rot, schön grasgrün, Erythrin nicht nachweisbar, Cyanin weniger als in 2.
				Kontrolle	5. Gut gewachsen, chromgrün, Fluoreszin, Cyanin vorhanden, Xanthose nicht nachweisbar
	Desgleichen mit Paraffinöl-abschluß:	0·815	2 Stunden	0	Steriles Fenster, sonst schwach gewachsen, farblos
		0·815	1 Stunde 40 Minuten	0	Schwach gewachsen, farblos

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Strahlungs-intensität	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
42	Von Stamm IX frisch besäte Gelatine-platten ergaben:	0·815	4 Stunden	0	1. Verflüssigt, sehr wenig gewachsen, Spur von zinnobergrüner Färbung, Cyanin und Xanthose vorhanden
				Aqua destillata	2. Verflüssigt, gut gewachsen, tiefere Schichten intensiv grasgrün, Cyanin vorhanden, Xanthose wenig
				Kontrolle	3. Verflüssigt, gut gewachsen, schwächer pigmentiert als in 2.
43	Desgleichen	0·815	2 Stunden	Petroleum	Schwach gewachsenes, farbloses Fenster, sonst gelbgrün fluoreszierend, Fluoreszin reichlich vorhanden, Cyanin wenig
		0·815		0	Steriles Fenster, sonst gut gewachsen, chromgrün, Fluoreszin und Cyanin vorhanden
	Desgleichen mit Paraffinöl-abschluß:	0·815	1 Stunde 15 Minuten	Rot	Schwach gewachsen, lichtgrün fluoreszierend, Fluoreszin vorhanden, Cyanin nicht
				Blau	Schwach gewachsen, lichtgrün fluoreszierend, Fluoreszin vorhanden, Cyanin nicht

			20 Minuten	0	Geringes Wachstum, grasgrün, Fluoreszin und Cyanin vorhanden, Xanthose in Spuren
			25 Minuten	0	Steril
44	Von Stamm IX frisch besäte Agarplatten ohne Kassetten allseits der Bestrahlung exponiert, in Eiswasser gekühlt, ergaben:	0·700	30 Minuten	1. Rot	Gut gewachsen, grasgrün, Fluoreszin stark fluoreszierend, Cyanin und Erythrin vorhanden, keine Xanthose
				2. Kupferchlorid	Wie in 1.
				3. Blau	Geringes Wachstum, schwach grasgrün, Xanthose vorhanden, weniger Fluoreszin als in 1.
				4. Aqua destillata	Geringes Wachstum am Rande, schwach chromgrün, Pigmente vorhanden
45	Von Stamm IV *Pyocyaneus* pigmentschwach frisch besäte Agarplatten, ohne Kassetten allseits der Bestrahlung exponiert, in Eiswasserkühlung, ergaben:	0·700	30 Minuten	Aqua destillata	Steril
				Rot	Gut gewachsen, zinnobergrün fluoreszierend, Fluoreszin vorhanden, Cyanin fehlt
				Blau	Sehr schwach gewachsen und pigmentiert, Fluoreszin und Cyanin in Spuren
				Kontrolle	Schwach gewachsen, Fluoreszin und Cyanin in Spuren

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Strahlungs-intensität	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
46/1	1 Monat alte schwarzgrünliche Agarplattenkultur von *Pyocyaneus* ergab:	0·652	40 Minuten	0	Nach dieser Bestrahlung der Platte war eine hiervon abgeimpfte Schrägagarkultur nahezu farblos gewachsen; Spuren von Fluoreszin nach 2 Tagen
46/2	1 Monat alte gelbgrüne *Fluoreszens liquefaciens*-Kultur auf Agarplatte ergab:	0·972	40 Minuten	0	Wie im vorhergehenden Versuche
46/3	2 Tage alte grasgrüne *Pyocyaneus*-Kultur auf Agarplatte ergab:	0·918	40 Minuten	0	Wie in beiden vorhergehenden Versuchen, jedoch schwächer gewachsen
46/4	46/1, 46/2, 46/3 Platten ergaben nach:	0·944	1 Stunde 15 Minuten	0	Von den bestrahlten Platten abgeimpfte Schrägagarkulturen blieben steril
47/1	Von Stamm I grünschwarze *Pyocyaneus*-Kultur ergab bei Eiswasserkühlung:			Aqua destillata	Von der bestrahlten Platte abgeimpfte Schrägagarkultur: gut gewachsen, nur Spuren von Fluoreszin
47/2	Vom Stamme IV *Pyocyaneus* pigmentschwach desgleichen:	0·980	40 Minuten	Aqua destillata	Wie im vorhergehenden Versuche
47/3	Vom Stamme IX *Pyocyaneus* chromgrün, 3 Tage alt, desgleichen			Aqua destillata	Von der bestrahlten Platte abgeimpfte Schrägagarkultur wenig gewachsen, Spuren von Fluoreszin

47/4	Wie im vorhergehenden Versuch ohne Wasserkühlung	0·883	1 Stunde 15 Minuten	0	Wie im vorhergehenden Versuche
47/5	Vom selben Stamm IX 6 Tage alte Kultur ohne Wasserkühlung	0·883	1 Stunde 15 Minuten	0	Von der bestrahlten Platte abgeimpfte Schrägagarkultur steril
48	Von Stamm IX frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·612	20 Minuten	0	1. Geringes Wachstum, grasgrün
		1·049	25 Minuten	0	2. Steriles Fenster, sonst wie im vorhergehenden Versuche
		0·606	30 Minuten	Rot	3. Gut gewachsen, grasgrün; mehr Fluoreszin, weniger Cyanin als in 1.
				Kupferchlorid	4. Ebenso
				Blau	5. Wenig gewachsen und schwächer pigmentiert; wenig Fluoreszin, mehr Cyanin als in 3.
				Aqua destillata	6. Schwach gewachsenes Fenster, Rand grasgrün
		0·647	45 Minuten	Aqua destillata	7. Großes steriles Fenster, Rand schwach gewachsen, gelbgrün fluoreszierend; nach 7 Tagen grasgrün. Die Platte wurde jetzt wieder 45 Minuten bestrahlt; Schrägagarkultur hievon farblos

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Strahlungs-intensität	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
49	Desgleichen	0·608	15 Minuten	0	1. Gutes Wachstum; Pigmentierung schwächer als 4.
				Rot	2. Schwach gewachsen, schön fluoreszierend. Fluoreszin 2 mal so viel als in 4.
				Kupferchlorid	3. Schwach gewachsen, am stärksten von den Versuchen 49 pigmentiert, Fluoreszin und Cyanin reichlich
				Blau	4. Starkes Wachstum, chromgrün. Cyanin 3 mal so viel als in 2.
				Kontrolle	5. Wie in 2., jedoch Cyanin 1·5 mal so viel als in 2.
50	Von Stamm V, in Schrägagar mit Paraffinabschluß gezogene, nicht ergrünte Kulturen, 3 Monate alt; hievon frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·650	1 Stunde	0	Steriles Fenster; Rand auffallend intensiv chromgrün, Pigmente reichlich
				Petroleum	Schwach gewachsenes Fenster; gelbgrün fluoreszierend, Pyocyanin nur in Spuren
		0·935	40 Minuten	0	Steriles Fenster; Rand chromgrün, Pigmente reichlich

51	Von Stamm IV frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·902	40 Minuten	0	Gleichmäßig dünn gewachsen; Spur von Grünfärbung, kein Cyanin
				Kontrolle	Gut gewachsen, farblos
52	Von Stamm IX frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·700	15 Minuten	0	1. Gutes Wachstum; Cyanin und Xanthose reichlich
				Rot	2. Geringes Wachstum; Fluoreszin reichlich, Erythrin deutlich
				Kupferchlorid	3. Wie in 2.; Fluoreszin mehr als in 2., etwa 3·5 mal soviel als in 4; Cyanin reichlich, Xanthose in Spur
				Blau	4. Stärkstes Wachstum; Cyaninbildung etwa doppelt so groß als in 2, Erythrin in minimaler Spur
				Kontrolle	5. Gleiches Verhalten wie in 2.

Versuchs-nummer	Versuchsanordnung	Strahlungs-intensität	Dauer der Bestrahlung	Verwendeter Filter	Resultat
53	Von Stamm IX frisch besäte Agarplatten ergaben:	0·653	25 Minuten	Rot	Wachstum und Fluoreszinbildung intensiv. Cyanin reduziert, gute Ausbeute in Wasser u. Sauerstoffdurchleitung
			5 Minuten	Blau	Intensives Wachstum, Fluoreszin wenig, Cyanin reduziert. Menge nahezu gleich wie in Rot (1·2 : 1)
				Kontrolle	Schwächeres Wachstum als der belichteten Kulturen, desgleichen Pigmentbildung, Cyanin weniger reduziert
54	Desgleichen	0·710	30 Minuten	Rot	Wachstum und Fluoreszinbildung intensiv. Cyanin reduziert, gute Ausbeute in Wasser u. Sauerstoffdurchleitung
			6 Minuten	Blau	Fluoreszinbildung gering, sonst gleich wie in Rot. Cyaninmenge nahezu gleich
				Kontrolle	Schwächer gewachsen und pigmentiert. Cyanin nicht reduziert
55	Desgleichen	0·700	2 Stunden 20 Minuten	Rot	Kleines steriles Fenster, Wachstum, Cyanin und Fluoreszinbildung am Rande der Platte intensiver
			1 Stunde 30 Minuten	Blau	Kleines steriles Fenster, Wachstum und Zyaninbildung am Rande der Platte intensiver
				Kontrolle	Gleichmäßiges Wachstum, Pigmentierung schwächer als in Rot und Blau

Nun haben aber die Untersuchungen Ray-Lankaster's, Frédéricq's, Griffith's u. a., sowie die ausgedehnten Studien Krukenberg's, die nicht zur Genüge berücksichtigt erscheinen, gezeigt, daß es auch im Tierreiche Atmungspigmente gibt, die nicht durch molekularen Wasserstoff reduziert werden können. Es kann der Umstand, ob eine Reduktion des sauerstoffführenden Pigments durch Wasserstoff möglich ist oder nicht, unmöglich als Maßstab dafür genommen werden, ob ein Organismus imstande ist, aus einem Pigment den Sauerstoff zu nehmen oder nicht; dies würde ja besagen, daß der lebenden Zelle keine kräftigeren Reduktionsmittel zur Verfügung stehen als der molekulare Wasserstoff. Die Bedeutung eines sauerstoffführenden Pigments hängt von der Energie der Atmung, d. h. von den dem Organismus zur Verfügung stehenden Reduktionsmitteln ab. Bekanntlich gelingt die Reduktion unseres Pigments, des Pyocyanins, mit dem Wasserstoff in statu nascendi oder mit Schwefelwasserstoff. Ein Pigment kommt als Sauerstoffüberträger wohl dann in Betracht, wenn es, durch einen lebenden Organismus zur Base reduziert, neuerlich befähigt ist, Sauerstoff zu binden, und sich dieser Wechsel von Oxydation und Reduktion durch längere Zeit wiederholen läßt. Autoxydation allein berechtigt freilich nicht zur Annahme einer lockeren Bindung. — Pfeffer selbst gibt ja an, daß es Pigmente gibt, die Sauerstoff lockerer, andere, die ihn weniger locker binden. Auch in der Arbeit Shibata's über die lockere Bindung des Sauerstoffes durch Bakterien erscheint die Reduktion des Pigments durch Wasserstoff als Kriterium für eine solche Bindung angenommen. Dem *Pyocyaneus* wird wieder die Fähigkeit der lockeren Sauerstoffbindung abgesprochen. Außer der vorhin genannten Literatur über im Tierreiche vorkommende Atmungspigmente erscheint hier auch die mittlerweile erschienene, oben angeführte Arbeit Nösske's nicht berücksichtigt. Shibata sagt in seiner Arbeit, daß es für die Funktion gleichgültig sei, ob das Pigment als Sekret außerhalb der Bakterienzelle oder in derselben sich finde, da auch bei niederen Tieren der Farbstoff in der Blutflüssigkeit, also extrazellulär gegenüber den konsumierenden Zellen sich

vorfinde. Diese Auffassung bezüglich der Funktion der Pigmente niederer Tiere steht im Widerspruche zu seinem Kriterium der lockeren Sauerstoffbindung durch die Wasserstoffreduktion, da in solchem Sinne diese Atmungspigmente von Wirbellosen, wie aus den obigen Erörterungen hervorgeht, nicht als solche aufgefaßt werden könnten.

Zur Sterilisierung von Agarplattenkulturen mit Sonnenlicht reichte eine Expositionszeit von 25 Minuten bei einer Lichtintensität von 0·700 (Versuchsnummer 44) aus. Pansini hätte allerdings eine Sterilisation seiner *Pyocyaneus*-Kulturen erst in einer Stunde erzielt, jedoch macht er keine Angaben über die Lichtintensität bei seinen Versuchen. Bei Verwendung von Filtern wurde die Sterilisation in Blau bei einer Expositionszeit von 1 Stunde 40 Minuten, Lichtintensität = 0·650, in Rot in 2 Stunden 30 Minten erreicht (Versuchsnummer 39). Wie bei der Bestrahlung mit künstlichen Lichtquellen wird durch Abfilterung von Strahlungsbezirken nach kurzen Bestrahlungen die Farbstoffausscheidung erhöht, und zwar erscheint unter Einfluß der schwächer brechbaren Strahlen die Fluoreszin-, unter Einfluß der stärker brechbaren die Zyaninbildung erhöht.

Diese Erhöhung der Fluoreszinabscheidung, durch den Reiz langwelliger Strahlung veranlaßt, hat wohl in der höheren Erwärmung durch diese ihren Grund. Im Brutofen bei 37° C gewachsene Kulturen zeigen das gleiche Verhalten. Da wir wissen, daß durch die Erwärmung die Atmung erhöht wird, andrerseits bei Sauerstoffabschluß die Fluoreszinproduktion gehemmt wird, so haben wir wohl in diesem Farbstoffe ein Stoffwechselprodukt zu sehen, das mit der aëroben Atmung im Zusammenhange steht. In der kurzwelligen Strahlung finden andrerseits die optimalen Lebensbedingungen rascher ihre obige Grenze. Während also nach einem gleich lange einwirkenden Reiz mit langwelliger Strahlung noch eine reichlichere Reduktion der Cyanobase erfolgt, also weniger Cyanin vorhanden ist, hat sie bei kurzwelliger Strahlung bereits eine Hemmung erfahren, es wird mehr

Cyanin ausgeschieden. — Auch pigmentschwache Stämme (Versuch 45) zeigen diese Erscheinung. Die von einem solchen Stamme gezogene Kultur ist gegen Bestrahlung empfindlicher, sie wird rascher geschädigt, als die von einem reichlich Pigment absondernden Stamme erhaltene (Versuch 45). Bereits gut gewachsene Kulturen, die dann erst bestrahlt wurden, sind weniger empfindlich für die Belichtung als frische Aussaaten. Kulturen mit grünem, Sauerstoff abgabefähigen Pigment wurden in 40 Minuten Bestrahlung stärker geschädigt als solche mit oxydiertem, gebräuntem Pigment; die von diesen Platten neuerdings angelegten Kulturen wuchsen im letzteren Falle besser als im ersteren (Versuche 46 und 47).

Gaillard fand, daß die Lichtwirkung bei Luftzutritt stärker ist als ohne denselben. Auch in unseren Kulturen war das Wachstum bei Luftabschluß ein geringeres als bei Luftzutritt (Versuch 45). Nach längerer Bestrahlung (2 Stunden) trat auch bei Ausschluß aërober Atmung Sterilisation ein (Versuch 39).

Die Versuche mit künstlichen Lichtquellen und im Sonnenlichte zeigen übereinstimmende allgemeine Ergebnisse, die mir geeignet erscheinen, die herrschenden Unstimmigkeiten in der Beurteilung der Lichtwirkung auf Bakterien zu bereinen. Downes und Blunt hatten gefunden, daß die bakterizide Wirkung der blauen Strahlen eine größere ist als die der roten, und Bovie formulierte neuerdings das Gesetz, daß die zerstörende Wirkung des Lichtes zunimmt, wenn die Wellenlänge abnimmt. Andrerseits fand R. v. Wiesner, daß die langwelligen Strahlen den kurzwelligen an desinfizierender Kraft überlegen sind und die maximale Wirkung der für unser Auge unsichtbaren Bezirke den ersteren zukomme. Da nun die Strahlung verschiedener Wellenlänge nicht qualitativ, sondern nur quantitativ verschieden ist, so kann auch ihre Wirkung auf die materiellen Punkte nur von quantitativer Verschiedenheit sein, was ja auch mit der Planck und Einstein'schen Quantenhypothese in Übereinstimmung steht; es muß also das von Bovie empirisch gefundene Gesetz gelten. Entsprechend der kürzeren

Schwingungsdauer der kurzwelligen Strahlung erleidet die Zelle durch dieselbe mehr elektromagnetische Oszillationen in der gleichen Bestrahlungszeit, als wenn sie durch langwellige Strahlung getroffen wird. Es wird also der gleiche Effekt durch kurzwellige Strahlung in kürzerer Zeit erzielt werden als durch langwellige, wodurch es kommt, daß bei gleicher Bestrahlungsdauer dem kurzwelligen und langwelligen Lichte von den meisten Physiologen qualitativ verschiedene Wirkungen zugeschrieben werden konnten. Mit diesen Erwägungen stimmen die Ergebnisse meiner Bestrahlungsversuche überein. Bei einer Bestrahlungsdauer von 15 Minuten erscheint das Wachstum der *Pyocyaneus*-Kulturen hinter dem Blaufilter gegenüber den Dunkelkulturen gefördert; das Wachstum hinter dem Rotfilter ist gleich stark wie in den Dunkelkulturen (Versuche 49, 52). Mit der Verlängerung der Bestrahlungsdauer ändert sich dieses Verhalten. Bei einer Bestrahlungsdauer von 30 Minuten erscheint das Wachstum der Kulturen hinter dem Blaufilter gehemmt, das der Kulturen hinter dem Rotfilter gegenüber den Dunkelkulturen gefördert (Versuche 44, 45, 48). Blaauw, E. Vogt und jüngstens Sierp haben durch Versuche mit *Phycomyces*, *Avena sativa*, *Lepidium sativum* nachgewiesen, daß die Wachstumskurve der Pflanze durch den Lichtreiz eine Veränderung erfährt. Sierp findet, daß die Sachs'sche »große Periode« des Wachstums durch Lichtwirkung eine Abänderung in dem Sinne erfährt, daß eine anfängliche Steigerung, dann aber eine Herabdrückung, ein früheres Eintreten des Maximums und eine frühere Beendigung des Wachstums, also der Zellteilung, statthat. Diese Abweichung ist um so größer, je größer die wirkende Lichtintensität ist. Unsere Versuche zeigen, daß eine Photowachstumsreaktion auch für Bakterien statthat. Die Photoreaktion, zuerst Förderung und dann Hemmung der Zellteilung, wird um so rascher eintreten, je größer das auf die Bakterienzelle einwirkende Strahlungsquantum $h.v$ (wobei h die universelle Konstante = Wirkungsquantum Planck's, v die Frequenz bezeichnet) in der Zeiteinheit ist.

Daß durch diese Gesetzmäßigkeit sämtliche mit der Zellteilung zusammenhängenden Stoffwechselvorgänge beeinflußt werden, ist wohl klar. Diesen Erwägungen entsprechend muß in der Strahlung hoher Frequenz (blau), wegen des ihr innewohnenden hohen Quantums $h.v$ die wachstumsfördernde Wirkung des Lichtes rascher eintreten als in der Strahlung geringerer Frequenz (rot); ebenso tritt aber auch die darauffolgende Wachstumshemmung in der kurzwelligen Strahlung früher ein als in der langwelligen (Versuche 53, 54 und 55).

Diese Betrachtungsweise erscheint mir geeignet, die obengenannten Unstimmigkeiten über die Wirkung von verschiedenfarbigem Licht zu beseitigen und drückt wohl ein allgemeines Gesetz der Wirkung von verschiedenfarbigem Lichte auf die Lebensvorgänge aus: Verschiedenfarbiges Licht, das sind elektromagnetische Schwingungen von quantitativer Verschiedenheit, rufen physiologische Reaktionen von quantitativer Verschiedenheit hervor. In verschiedenfarbigem Lichte erscheinen in gleichen Zeiten verschiedene Phasen desselben Reaktionsvorganges des Organismus; es kann so der Eindruck einer qualitativ verschiedenen Wirkung erweckt werden.

5. Über die Reduktion des Pyocyanins durch andere sauerstoffverbrauchende Bakterien und über die Erhöhung des Gaswechsels durch dieses Pigment.

Für die Feststellung, daß das Pyocyanin als Sauerstoffüberträger in Betracht komme, erschien mir einerseits die Prüfung der Frage von Wert, ob das Pigment auch durch andere aërobe Bakterien reduziert werde; andrerseits, ob der Verbrauch von Sauerstoff und die Abgabe von Kohlendioxyd bei seiner Anwesenheit erhöht würden. Mühsam und Schimmelbusch haben darauf hingewiesen, daß die Symbiose des *Pyocyaneus* mit verschiedenen anderen Mikroorganismen die Pigmentproduktion zu beeinflussen vermag.

So verliere unser Bakterium in Mischkulturen mit Staphylokokken, *Tetragonus, Anthrax, Aspergillus fumigatus, Oidium lacteum* das Vermögen der Farbstoffproduktion ganz oder nahezu ganz. Ich habe wässerige Pyocyaninlösung Staphylokokkenkulturen (*Staph. albus*) oder Streptokokkenkulturen in Bouillon zugefügt oder aber die mit Cyanin versetzte Bouillon mit solchen Bakterien besät. Die Kulturen wurden durch das Cyanin nicht geschädigt, sondern wuchsen gut. In manchen Kulturen zeigte sich bereits nach der 24stündigen Bebrütung bei 37°C, in anderen, nachdem sie erst noch mehrere Tage bei Zimmertemperatur belassen wurden, ein Verschwinden der grünen Farbe der Flüssigkeit, bis auf eine grüne Zone an der Oberfläche bei Luftzutritt; bei Luftabschluß fehlte auch diese. Durch Einleiten von Sauerstoff wurde die grüne Farbe wieder hergestellt, ein Beweis, daß das Cyanin zur Base reduziert worden war. Doch stellte ich auch Staphylokokken- und Streptokokkenstämme fest, von denen das Cyanin nicht oder nur in geringem Maße reduziert wurde. Es verhielten sich also Stämme von Staphylokokken und Streptokokken dem Pyocyanin gegenüber genau so wie der produzierende Organismus, das *Bacterium pyocyaneum* selbst, d. h. sie reduzierten das Pigment zur Leukobase. So ist die von Mühsam und Schimmelbusch als Verlust der Farbstoffproduktion beschriebene Beobachtung wohl zu erklären als Reduktion des vom *Pyocyaneus* ausgeschiedenen Cyanins durch die symbiontischen Bakterien.

Um zu ermitteln, ob die Cyaninreduktion durch Bakterien eine Bedeutung für die Atmung der Bakterienzelle habe, untersuchte ich, ob der Gaswechsel der viel Pigment produzierenden *Pyocyanei* ein größerer sei als der pigmentschwacher und der von *Fluoreszens liquefaziens.* Daß damit kein zwingender Beweis für die Bedeutung des Pyocyanins als Atmungspigment erbracht wird, ist mir ja klar; ein solcher ist überhaupt nicht zu erbringen. Doch ist die Wahrscheinlichkeit immerhin groß, daß, wenn bei Gegenwart einer größeren Menge eines vom Organismus reduzierten Pigments der Atmungsgaswechsel ein größerer ist als bei Anwesenheit einer geringeren Menge oder beim Fehlen dieses Pigments

in einem sehr nahe verwandten Organismus, dem Pigmente eine respiratorische Bedeutung zukomme.

Die einschlägigen Versuche wurden in folgender Weise durchgeführt: Als Kulturgefäß wurden Hesse'sche Kölbchen verwendet, die, mit einem eingeschliffenen Glasstopfen verschlossen, zwei Röhrchen trugen, die durch einen Glashahn gesperrt waren. Über dem Glasstopfen befand sich zum sicheren Abschluß eine Quecksilberschicht. In die Kölbchen wurden 100 cm^3 Bouillon eingefüllt, die im ersten Falle mit 5 cm^3 einer *Pyocyaneus*-Aufschwemmung vom Stamme IX, im zweiten einer solchen vom Stamme IV (pigmentschwach), im dritten mit einer *Fluoreszens* - Aufschwemmung vom Stamme VI besät waren. Die Glashähne wurden nun geschlossen. Die Kölbchen kamen durch 20 Stunden in den Brutofen bei 37° C und wurden dann bei 18 bis 20° C Lufttemperatur im diffusen Lichte gehalten. Täglich wurden nun den Versuchen mit der Hempel'schen Gasbürette, die unter Quecksilber gefüllt wurde, gleiche Mengen Gas (20 bis 30 cm^3) entnommen und das Gas in die Kali-, dann in die Phosphorpipette übergetrieben. Nach der Gasentnahme wurden die Hähne geöffnet, so daß ein Gasausgleich mit der atmosphärischen Luft erfolgte. Die Ablesungen erfolgten bei 20° C. — Wie die folgende Tabelle zeigt, ist in den Parallelkulturen der Sauerstoffverbrauch und die Kohlendioxydabgabe in den ersten 6 Tagen im wesentlichen gleich, erst dann tritt mit dem Wachsen der ausgeschiedenen Pyocyaninmenge ein stärkerer Gaswechsel des farbstoffkräftigen *Pyocyaneus*-Stammes ein. Auch die Untersuchungen K. Wolf's zeigen einen größeren Gaswechsel des *Pyocyaneus* gegenüber dem *Fluoreszens* in den letzten Beobachtungstagen. Übereinstimmend mit seinen und Hesse's Befunden zeigt auch die Tabelle, daß mehr Sauerstoff aufgenommen als Kohlendioxyd abgegeben wird.

Auffallend ist auch in den Beobachtungen Wolf's die wohl durch die größere Atmung bedingte, im Vergleich zum Verhalten des *Fluoreszens* erhöhte Ammoniakproduktion nach 14 bis 28 Tagen des *Pyocyaneus*, ein Umstand, der wohl für meine Auffassung von der Bedeutung des Cyanins spricht.

Tabelle 4.

Sauerstoffverbrauch und Kohlendioxydabgabe auf 100 cm^3 Luft von Bakterien.

Versuchsdauer	*Fluoreszens liquefaziens*		*Pyocyaneus*, schön chromgrün		*Pyocyaneus*, pigmentschwach	
	O_2	CO_2	O_2	CO_2	O_2	CO_2
1 Tag	2·4	1·9	0	2·9	0·5	0·6
2 Tage	6·2	2·6	1·6	6	4·5	4·9
3 Tage	6	2·4	6·2	8·3	7·5	6·3
4 Tage	10	6·3	9	9·1	6·5	6·7
5 Tage	10·1	6·3	16·3	16	8·2	8·5
6 Tage	12·3	7·9	12·5	12	8	7·9
7 Tage	9	6·8	14	12·2	10·2	8·6
8 Tage	10·2	6	14·5	12·4	7·6	6·4
9 Tage	10·5	6·3	17	14·1	8·2	6·6
10 Tage	9·3	5·5	18·2	15·3	6·4	5·1
11 Tage	8·8	4·7	18	14·7	6·6	4·9
12 Tage	8	4·2	17·6	14·4	5·7	4
13 Tage	7·1	3·6	18·5	15·2	6·8	4·8
14 Tage	7·4	3·9	18·2	15	7	5·3

Es wäre von Wert, die Größe des Sauerstoffbindungsvermögens unseres Zyanins quantitativ zu ermitteln; dieses Exkretionsprodukt scheint ja einen Fingerzeig zu geben, wie die Sauerstoffüberträger entstanden sein könnten. Für die Wertung seiner biologischen Bedeutung sind aber zunächst die Fragen maßgebend, ob es Sauerstoff bindet und ob es von der lebenden Bakterienzelle wieder reduziert wird — beide Fragen sind bejahend zu beantworten.

Während die *Fluoreszentes* als Bewohner von Boden und Wasser harmlose Saprophyten sind, kann der *Pyocyaneus* außerdem zum Erreger von Krankheitsprozessen werden. Wenn er auch anaërob leben kann, so ist eine floride Entwicklung nur bei Sauerstoffanwesenheit möglich. Es ist nun sicher von Bedeutung, daß das Zyanin in *Pyocyaneus*-Eiterungen in der reduzierten Form vorhanden ist, also Sauerstoff dem Bakterium in den Eiter zuführt. Andrerseits hat ja Jakowski gefunden, daß die neuen, durch den tierischen Organismus durchgeführten Generationen intensiver Pyocyanin bilden als die zur Impfung benutzen. Die Möglichkeit, sich durch die Ausscheidung des Cyanins auch einem lebenden, atmenden Gewebe gegenüber im gleichen Raume den nötigen Sauerstoff sichern zu können, ist gewiß einer der Faktoren, die es dem *Pyocyaneus* zum Unterschiede von den *Fluoreszentes* ermöglichen, seinen Lebenshaushalt zu beeinflussen, also unter Umständen der Pathogenität seine Besiedlungsmöglichkeit zu vergrößern.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Das Pyocyanin kann außer durch Schwefelwasserstoff oder Natriumamalgam auch durch den elektrischen Strom am Wasserstoffpol zur Leukobase reduziert werden; am Sauerstoffpol wird es zum stabilen Pyophaein oxydiert und schließlich auch dieses Pigment durch den Strom zerstört.

Das *Bacteriofluoreszin* zeigt am Wasserstoffpol eine starke Steigerung seiner grünen Fluoreszenz, am Sauerstoffpol Verfärbung in Braun bei Verschwinden der Fluoreszenz und schließlich Ausbleichung.

2. Die Pyocyaninabscheidung ist bei geringen Lichtintensitäten im diffusen Lichte und bei Anwesenheit von Luftsauerstoff geringer als im Dunkeln; die Fluoreszinbildung sowie die Oxydation des Cyanins zum Phaein wird unter diesen Bedingungen gefördert. Von Bouillonkulturen wird im Lichte und bei Luftabschluß die Cyanobase produziert, von Peptonwasserkulturen die Base aber auch zum blauen Pigmente oxydiert. Im Dunkeln werden bei Luftabschluß keine Pigmente produziert.

3. Das Wachstum von frischgesäten *Pyocyaneus*-Kulturen wird durch kurze Bestrahlungen mit künstlichen Lichtquellen (Quarzlampe oder Höhensonne) sowie mit Sonnenlicht bei Durchlaß eines engen Strahlungsbezirkes (Verwendung von flüssigen Lichtfiltern oder solchen von Jenaer Glas) gefördert. Mit dieser Wachstumsförderung durch schwache Bestrahlung (bei einer Intensität von 0·635 B. E. und Blaufilter bis zu 10 Minuten Belichtungsdauer) geht eine erhöhte Reduktion des Cyanins parallel, wodurch eine verringerte Cyaninabscheidung bei geringer Belichtung in Erscheinung tritt. Längere Bestrahlungen rufen die bekannten Wachstumshemmungen hervor. Mit Abnahme des Wachstums tritt als Hemmungserscheinung eine geringere Cyaninreduktion ein, wodurch eine größere Menge dieses Pigments, am raschesten unter Einfluß kurzwelliger Strahlung, zur Abscheidung kommt. Die Fluoreszinproduktion erscheint durch langwellige Strahlung gefördert. Der Verlust der Pigmentbildung durch lange Bestrahlung beruht auf einer raschen Oxydation der Farbstoffe. Eine Sterilisierung von Agarplattenkulturen wurde mit der U-Lampe bei einer Strahlungsintensität von 0·635 B. E. in 40 Minuten, mit Sonnenlicht bei $J = 0 \cdot 700$ B. E. in 25 Minuten, hinter dem Blaufilter von Jenaer Glas bei $J = 0 \cdot 650$ in 1 Stunde 40 Minuten, hinter dem Rotfilter von Jenaer Glas bei $J = 0 \cdot 650$ in 2 Stunden 30 Minuten erzielt. Gut entwickelte Kulturen sind gegen Bestrahlung weniger empfindlich als frische Aussaaten.

4. Die Wirkung von verschiedenfarbigem Lichte auf die Bakterienzelle ist eine quantitativ verschiedene. Der Effekt der kurzwelligen Strahlung von größerem Wirkungsquantum

ist in kürzerer Zeit derselbe wie der der langwelligen Strahlung von geringerem Wirkungsquantum in längerer Zeit. Es erscheinen in verschiedenfarbigem Lichte in gleichen Zeiten verschiedene Phasen desselben Reaktionsvorganges des Organismus. Diese Gesetzmäßigkeit zeigen Wachstum und Pigmentabsonderung des *Pyocyaneus.*

5. Die Reduktion des Cyanins ist in Bouillonkulturen ein Lebensvorgang zur Gewinnung von Atmungssauerstoff. Das Pigment ist hier ein Sauerstoffvehikel zum Transport nach tieferen Flüssigkeitsschichten, es verhält sich also wie die Atmungspigmente. *Pyocyaneus*-Stämme mit kräftiger Pigmentproduktion zeigen mit der Zunahme der ausgeschiedenen Cyaninmenge eine Erhöhung des Atmungsgaswechsels. Im Peptonwasser ist das Cyanin ein bedeutungsloses Ausscheidungsprodukt.

6. Das Pyocyanin wird auch von anderen Bakterien reduziert. Beobachtet wurde die Reduktion mit *Staphylococcus albus* und *Streptococcus pyogenes.*

Diese Untersuchungen wurden zum größten Teile im Universitätsinstitute für pathologische Histologie und Bakteriologie in Wien durchgeführt. Für ihre Förderung, insbesondere auch durch die Ermöglichung der Benutzung der Hilfsmittel dieses Instituts, bin ich dem Vorstande, Herrn Prof. Dr. O. Stoerk, sowie dem Assistenten Herrn Dozenten Dr. Th. Bauer, zu größtem Danke verpflichtet. Desgleichen habe ich Herrn Prof. Dr. Ehrmann und Herrn Dozenten Dr. Kyrle für die gütige Erlaubnis der Benutzung von Quarzlampe und Höhensonne meinen besten Dank abzustatten.

Wien, Ostern 1918.

Literaturnachweis.

Arnaud et Charrin, Transformation et élimination de la matière organique azotée par le bacille pyocyanique dans un milieu de culture déterminée. (Le Bullet. Med. 1891, Nr. 30.)

Babès, Note sur quelqes matières colorantes et aromatiques produites par le bacille pyocyanique. (Compt. vend. biol., 1889.)

Bejerink, Bildung und Verbrauch von Stickoxydul durch Bakterien. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 25.)

Boland, Über Pyocyanin, den blauen Farbstoff des *Bacillus pyocyaneus*. (Zentralbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 25.)

Bovie, The action of Schumann Rays on living organisms. (Bot. Gaz. LXI, 1916.)

Charrin et Phisalix, Abolition persistante de la fonction chromogène du bacille pyocyaneus. (Compt. rend. 114, 1892.)

Conor, Sur un nouvel échantillon de la variété mélanogène du bacille pyocyanique. (Compt. rend. biol., 1902.)

Downes and Blunt, The effect of light on bacteria. (Proc. of royal society XXVI, 184, 1877.)

Ewart, On the Evolution of oxygen from coloured Bacteria. (Journ. Linn. Soc. Bot. XXXIII, 1897.)

Fordos, Recherches sur la matière colorante des suppora-tions bleues : pyocyanine. (Compt. rend. Paris 1860.)

— Recherches sur les matières colorantes: pyocyanine et pyo-xanthose. (Ebenda, 1863.)

Frédéricq, Sur l'hémocyanine. (Compt. rend. 87, 1878.)

Gaillard, Thèse de Lyon Nr. 396.

Gessard, Sur le microbe pyocyanique. (Ann. Inst. Past. 1890, Nr. 2.)

— De races de bacille pyocyanique (Ebenda, 1891, Nr. 2.)

Gotch u. Lawson, The blood of Limulus. (Rep. British Association forthe advance of science 1885.

Griffith, On the blood of invertebrata. (Proc. roy. soc. of Edinburgh 18, 1890—91).

Haliburton, In the blood of Decapod Crustacea. (Journ. of Physiol. 6, 1885).

Heim, Sur la matière colorante blanc du sang des Crustacées. (Compt. rend. 114, 1892.)

Hempel, Neue Methoden zur Analyse der Gase. Braunschweig, 1880.

Jakowski, Beiträge zur Lehre von den Bakterien des blauen Eiters. (Zeitschr. f. Infektionskrankh. u. Hygiene. XV, 1893.)

Jolyet u. Regnard, Recherches physiologiques sur la respiration des animaux aquatiques. (Arch. de physiologie 2. S. tome 4, 1877.)

Krause, Einwirkung von hochgespannten Strömen auf den *Bacillus pyocyaneus* u. a. (Zentralbl. f. Bakt. I., 1900.)

Krukenberg, Vergleichend-physiologische Studien. Heidelberg, 1880—1882.)

Laurent, Variabilitè du bacille rouge de Kiel. (Ann. Inst. Past. 1890, 5.)

Mühsam u. Schimmelbusch, Über Farbenprodruktion des *Bacillus pyocyaneus.* (Arch. f. klin. Chirurgie, XLVI, 93.)

Noesske, Neue Untersuchungen über den *Bacillus pyocyaneus* (Arch. f. Klin. Chirurg. 61, 1900.)

Palladin, Über Atmungspigmente. (Ber. d. d. bot. Ges., 1912.)

Pfeffer u. Ewart, Lockere Bindung von Sauerstoff in gew. Bakterien. (Ber. sächs. Ges. d. Wiss., math. phys. Kl. Leipzig 48, 1896.)

Ray Lankaster, Abstr. of a report on the spectroscopic examination of certain animal substances. (Journ. of Anatomy and physiol. 3, 1876.)

Shibata, Untersuchungen über die lockere Bindung von Sauerstoff in gewissen farbstoffbildenden Bakterien und Pilzen. (Jahrb. f. wiss. Bot. Leipzig, 1912.)

Sierp, Über den Einfluß des Lichtes auf das Wachstum der Pflanzen. (Ber. d. d. bot. Ges., Bd. 35, 1918.)

Thêré, Le cuivre hématique et la capacité respiratoire de l'hémocyanine. (Compt. rend. soc. biol. 52, 1900.)

R. v. Wiesner, Die Wirkungen des Sonnenlichts auf pathogene Bakterien. (Arch. f. Hygiene, LXI.)

Wolf, Einige Ergebnisse der bakteriolog. Untersuchung des Elbewassers. (Zeitschr. f. Gewässerkunde. I, 1898.)